

Lymphozyten-Subpopulationen bei Patienten mit Tonsillenkarzinom

Gabriele Forell-Engelken

Disbui. München

1987





Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut für Chirurgische Forschung
der Universität München
(Vorstand : Prof. Dr. Dr. W. Brendel)

**Lymphozyten-Subpopulationen
bei Patienten mit Tonsillenkarzinom**

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Gabriele Forell-Engelken

München 1987

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Dr. med. vet. C.
Hammer

Mitberichterstatter: 1. Prof. Dr. med. Dr. h.c. W. Brendel
2. Prof. Dr. med. E. Kastenbauer

Betreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: Dr. C. Lersch

Dekan: Prof. Dr. med. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 30.7.1987

Abkürzungsverzeichnis

AK	Antikörper
B-Zellen	Bursaabhängige Zellen
CD 3	Cluster of Differentiation 3 markiert reife periphere T-Lymphozyten
CD 4	Cluster of Differentiation 4 markiert Helfer-/ Inducer T-Lymphozyten
CD 8	Cluster of Differentiation 8 markiert Suppressor-/ zytotoxische T-Lymphozyten Die CD-Nummer bezeichnet die Clusters of Differentiation, definiert im 1. und 2. Internationalen Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (Paris 1982, Bosten 1984)
Con A	Concanavalin A
FITC	Fluoresceinisothiocyanat
Gy	Gray, Einheit für Energiedosis
I.E.	Internationale Einheiten
IgA	Immunglobulin A
IgG	Immunglobulin G
MAK	Monoklonale Antikörper
OKT	Ortho Clone Anti-T-Cell Antibodies (Warenbezeichnung der Fa. Ortho Pharmaceutical Corp.)
PHA	Phytohaemagglutinin
TCa	Tonsillenkarzinom
TDG	Tumordifferenzierungsgrad
T-LSP	T-Lymphozytensubpopulation

TNM Klassifizierung von Tumoren nach Tumorgroße,
regionalem Lymphknotenbefall (node) und
Metastasierung

Tp Tonsilla palatina

UICC Union internationale contre le cancer

ÜZ Überlebenszeit

WHO World Health Organisation

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1	Einleitung 9
1.1	Problemdefinition und Ziel der Arbeit 9
2	Das Tonsillenkarcinom
	Patientengut, Material und Methode 13
2.1.	Das Tonsillenkarcinom 13
2.1.1.	Anatomie der Tonsilla palatina 13
2.1.2	Die Funktion der Tonsilla palatina 14
2.1.3	Epidemiologie der Tonsillentumoren 16
2.1.4	Ätiologie des Tonsillenkarcinoms 16
2.1.5	Diagnose und Therapie des Tonsillenkarcinoms 16
2.2	Patientengut 20
2.2.1.	Alters- und Geschlechtsverteilung 23
2.3.	Material 24
2.3.1	Monoklonale Antikörper 24
2.3.2	Blut 26
2.3.3	Gewinnung und Aufarbeitung von Mundabstrichen 27
2.4	Methode 28
2.4.1	Separation von T-Lymphozyten aus peripherem Blut 28
2.4.2	Markierung der T-Lymphozyten mit monoklonalen Antikörpern 29
2.4.3	Leukozytenbestimmung und Blutausstrich 30
2.4.4	Zytozentrifugenpräparat 31
2.4.5	Abstrichzytologie 32
2.4.6	Fluoreszenzmikroskop 34
2.5	Statistische Methoden 36

	Seite
3. Ergebnisse	37
3.1 Überlebensstatistik	37
3.1.1 Mortalität	37
3.1.2 Überlebenszeit von Tonsillen-Karzinompatienten in Abhängigkeit von Tumordifferenzierungsgrad und Tumorgroße	39
3.1.3 Korrelation von T-Lymphozytensubpopulationen mit den Überlebensmonaten der Patienten	41
3.1.4 Positive Abstrichzytologie und Überlebensrate der Patienten	41
3.2 T-Lymphozytensubpopulationen bei allen Patienten	44
3.2.1 T-Lymphozytensubpopulationen und Tumordifferenzierungsgrad	44
3.2.2 T-Lymphozytensubpopulationen und Tumorgroße	45
3.2.3 T-Lymphozytensubpopulationen und Tumordifferenzierungsgrade vor Therapie	46
3.2.4 T-Lymphozytensubpopulationen und Tumorgroße vor Therapie	48
3.3 T-Lymphozytensubpopulationen bei Patienten unter Zytostatikatherapie	50
3.4 T-Lymphozytensubpopulationen vor und nach Therapie	52
3.5 Beziehung der Veränderung von Gesamt- T-Lymphozyten und B-Zellen (Regressionsanalyse)	53
3.6 Verhältnis von Helfer- zu Suppressor- und zytotoxischen Zellen bei Patienten mit Tonsillenkarcinom im Vergleich zu der Relation von Helfer- zu Suppressor- und zytotoxischen Zellen bei Normalpersonen	55
3.7 Abstrichzytologie und Suppressor/zytotoxische T-Lymphozyten	56

	Seite
3.8	Ausgewählte Patientenverläufe 57
3.8.1	T-Lymphozytenwerte bei einem Patienten nach operativer Therapie 57
3.8.2	T-Lymphozytenwerte bei einem Patienten nach präoperativer Strahlentherapie 59
4.	Diskussion 61
4.1.	Morbidität 61
4.2.	Therapie und Überlebenszeit 63
4.3.	Immunologisches Monitoring von Karzinompatienten 65
4.4	Tumordifferenzierungsgrad und periphere T-Lymphozytensubpopulationen 70
5.	Zusammenfassung 73
	Literaturverzeichnis 77

1 Einleitung

1.1 Problemdefinition und Ziel der Arbeit

Die Untersuchung der Immunologie von Tumoren wurde im Laufe der letzten Jahre ein fester Bestandteil der Tumorforschung [53]. Eine wesentliche Voraussetzung zur Charakterisierung des Immunstatus wurde durch die Einführung der Hybridisierungstechnik geschaffen [48], wodurch monoklonale Antikörper gegen zelluläre Oberflächenantigene von hoher Spezifität hergestellt werden können [51]. Mit Beginn der Ära der monoklonalen Antikörper (MAK) waren die Voraussetzungen erfüllt, verschiedene Phenotypen von T-Zellklassen zu bestimmen, die für die zelluläre und humorale Immunantwort von Bedeutung sind [30].

Eine Tumorart, die für die klinische Überwachung leicht zugänglich ist und zudem auf einem lymphatischen Organ wächst, ist das Karzinom der Tonsilla palatina (Tp). Trotz der zur Diagnostik vermeintlich günstigen topographisch anatomischen Lokalisation stellt das Tonsillenkarzinom (TCa) ein Problemkarzinom in vieler Hinsicht dar:

Unspezifische Symptomatik, späte Diagnose bei bereits ausgedehntem Tumor und zumeist erfolgter lokaler Metastasierung charakterisieren das TCa. Die späte Diagnosestellung verschlechtert die Prognose der Patienten, so daß im Anschluß an die chirurgisch-radiologische Therapie zusätzlich eine kurzfristige ambulante Nachsorge notwendig ist [49, 84].

Im Gegensatz zu anderen Karzinomen, gibt es für das TCa keine Serumparameter, anhand deren Verlaufskontrolle der operativ-radiologische Therapieerfolg, sowie auch eine be-



ginnende Rezidivierung verfolgt werden kann. Als Tumormarker der Neubildungen des Magen-Darm-Trakts ist das CEA (Carcino-embryonales Antigen) ein, wenn auch nicht spezifischer, in der Mehrzahl der Fälle jedoch zuverlässiger serologischer Parameter.

Die Einführung von MAK eröffnet neue Möglichkeiten, die zum Verständnis der Immunregulation beim Menschen beitragen [100]. Eine Charakterisierung der Träger der humoralen und zellulären Abwehr, der B- und T-Zellen, wurde durch MAK möglich [36]. Deshalb liegt es nahe, die T-Zellen des peripheren Bluts als Verlaufsparemeter bei konsumierenden Krankheiten zusätzlich zur klinischen Überwachung heranzuziehen.

In der vorliegenden Arbeit sollten weiterführende Erkenntnisse zum "immunologischen Monitoring" von TCa-Patienten gewonnen werden:

1) Dieses "immunologischen Monitoring" schloß Untersuchungen vor, während und nach Therapie ein, um Erkenntnisse über tumor- und therapiebedingte Veränderungen des Immunsystems zu erhalten. Das Monitoring der T-Lymphozytensubpopulationen (T-LSP) als Vermittler der zellulären Immunantwort erschien von besonderem Interesse, da die T-Lymphozyten als Regulatoren der immunologischen Homöostase angesehen werden [53] und so die Reaktion und Auseinandersetzung des Organismus mit dem Karzinom widerspiegeln [6, 53].

2) Gleichzeitig wurden Erkenntnisse früherer Studien zur Präsenz von tumorassoziierten Antikörpern weiter verfolgt [32, 33, 55, 61]. Diese autologen Antikörper (AK) der IgG-Klasse sind durch quantitative Immunfluoreszenz auch auf den proliferierenden Karzinomzellen nachweisbar. Die Frage eines möglichen Zusammenhanges von Veränderungen des

peripheren T-LSP Status und autologen Tumorantikörpern sollte untersucht werden.

3) Die Verteilungsmuster der T-LSP wurden bei Karzinompatienten und einem Normalkollektiv gemessen. Das Normalkollektiv setzte sich aus Mitgliedern des Instituts für Chirurgische Forschung aller Altersgruppen und mit normalen Lebensgewohnheiten zusammen.

4) Tumorgöße und histologisches Grading als Einflußgrößen auf die T-LSP-Verteilung wurden analysiert.

Insgesamt sollte im Rahmen dieser Arbeit der Zusammenhang zwischen Karzinomwachstum und Veränderungen der T-LSP, sowie die Möglichkeit einer verbesserten Diagnosestellung und Verlaufsbeobachtung von Karzinompatienten mit Hilfe von MAK beurteilt werden.

2 Das Tonsillenkarcinom Patientengut, Material und Methode

2.1. Das Tonsillenkarcinom

2.1.1. Anatomie der Tonsilla palatina

Die Tonsilla palatina (Tp) liegt als Teilorgan des Waldeyer-schen Rachenrings beiderseits in der dreieckigen Nische zwischen dem vorderen und dem hinteren Gaumenbogen. Sie grenzt mit Ihrer medialen Oberfläche an die Schlundenge. Um die laterale Fläche der Gaumenmandel bildet die Faszia des M. constrictor pharyngis eine bindegewebige Kapsel, aus der die Tp in toto ausgeschält werden kann [27].

Die Tp besteht aus einem Überzug von unverhorntem, mehrschichtigem Plattenepithel und einer 1-2 cm dicken Unterlage aus lymphatischem Gewebe. Die Oberfläche der Gaumenmandel wird durch spaltförmige Einsenkungen, den Fossulae tonsillares, vergrößert, in die die zahlreichen Cryptae tonsillares aus der Tiefe der Tonsillen einmünden. Aufgrund dieser Krypten beträgt die Oberfläche der Tonsille ca. 295 cm² [68]. Durch die epitheliale Basalmembran der Krypten gelangen Lymphozyten und Antigene in das darunter liegende lymphatische Gewebe und verstärken so den Kontakt zwischen antigener Umwelt und dem Organismus [47].

Das lymphatische Gewebe der Tonsille wird in Rinde, Paracorticalzone und Mark eingeteilt. In der Rinde befinden sich Primär- und Sekundärfollikel, während die Terträrfollikel in der tiefer gelegenen Parakortikalzone liegen. Das

diffuse lymphatische Gewebe aller drei Zonen bezeichnet man als Pulpa [9, 45].

Die Gefäßversorgung der Tp wird arteriell durch den R. tonsillaris aus der A. palatina ascendens oder direkt aus der A. facialis sichergestellt. Schwächere Äste zur Gaumentonsille stammen aus der A. lingualis und der A. pharyngea ascendens. Die Venen aus der Tp fließen zum Plexus pharyngeus an der Rachenwand ab [27].

Die Lymphe aus der Tp wird zu den oberen Nodi lymphatici cervicales profundi, u.a. zum Nodus lymphaticus subdigastricus, abgeleitet. Die Lymphbahnen des Zungengrunds beschränken sich nicht streng auf eine Seite, sondern verlaufen auch zur kontralateralen Seite. [84]

2.1.2 Die Funktion der Tonsilla palatina

Organismen sind ständigen Angriffen von Krankheitserregern ausgesetzt. Überleben können sie nur mit einem funktionsfähigen Abwehrsystem. Höhere und niedere Lebewesen besitzen neben anderen Mechanismen - z.B. Phagozytose - ein immunologisches Abwehrsystem, welches auf der Fähigkeit beruht, "Selbst" und "Fremd" zu unterscheiden [6]. Eine wesentliche Eintrittspforte für Fremdstoffe sind neben Haut und Urogenitaltrakt die Luftwege und der Magendarmtrakt, an dessen proximalem Ende der Waldey'sche Rachenring und als dessen größter Anteil die Tonsillae palatinae liegen.

Die Tp nimmt innerhalb des Immunsystems eine Sonderstellung ein: Zum einen übt sie an der aerodigestiven Pforte des Organismus eine lokale Schutzfunktion aus, zum anderen stellt sie ein wichtiges Glied in der systemischen Reaktion des gesamten Lymphapparates dar [84].

Zu den lokalen Schutzmechanismen wird die autonome Antikörperproduktion gerechnet [56, 93, 94]. Die Gewebekonzentrationen der lokal wirkenden Schleimhautantikörper, verhalten sich quantitativ unabhängig vom Serumtiter der analogen zirkulierenden Antikörper. Sie richten sich nach der örtlichen Immunstimulation. Unmittelbar nach Tonsillektomie sinkt das in der Schleimhaut in großen Mengen vorhandene IgA stark ab [75, 96].

Neben der lokalprotektiven Funktion kann die T_p Immuninformationen für den gesamten Organismus aufnehmen. Ein enger Kontakt zu den Antigenen der Umwelt wird durch die Histoarchitektur dieses Organs erleichtert: Die Oberflächenvergrößerung durch die Krypten [68], sowie die netzartig aufgelockerten Strukturen des Kryptenfundus [24, 70] erleichtern die Migration von Lymphozyten in die Kryptenlichtung und zurück [87]. Bei Kontakt mit Antigen zeigt die T_p das gleiche Reaktionsverhalten wie die Lymphknoten oder die Milz [19, 93]. Durch Autoradiographie konnte nachgewiesen werden, daß - durch in das Kryptenlumen eingedrungene Antigene ausgelöst - in weniger als 48 Stunden in den Keimzentren Lymphozyten heranreifen. Diese sammeln sich in der Lymphozytenkappe der Sekundärfollikel an und gelangen schließlich über das subepitheliale Gewebe in das Tonsillenretikulum [65, 66]. Erst hier kommt es zu den für den Gesamtorganismus wichtigen immunologischen Reaktionen. Durch erneuten Antigenkontakt stimuliert, wandeln sich die T-Lymphozyten in T-Blasten um, während aus B-Lymphozyten schließlich Plasmazellen entstehen, die humorale Antikörper (AK) produzieren. Gleichzeitig entstehen Gedächtniszellen, die in der Lage sind, bei erneutem Kontakt mit demselben Antigen die immunologische Abwehr sofort, wie vorab beschrieben, zu induzieren.

2.1.3 Epidemiologie der Tonsillentumoren

Tumoren des Oropharynx machen im Weltdurchschnitt 2-5 % aller malignen Neubildungen beim Menschen aus. Darunter bilden die Plattenepithelkarzinome mit ca. 70 % den größten Anteil [5, 84]. Von den Plattenepithelkarzinomen sind ca. 61% auf den Tonsillen lokalisiert. [4, 5, 84]. Als weitere Tumoren der Tonsille treten mit ca. 23 % die Sarkome und die lymphoepithelialen Tumoren (Typ: Schmincke-Regaud) und in seltenen Fällen die Retikulozell-Sarkome auf.

Im Vergleich zu den Primärtumoren der Tonsille treten metastatische Absiedlungen mit ungefähr 3 % in den Hintergrund [4]. Zum Zeitpunkt der Diagnosestellung sind bei über 75 % der Patienten palpable Lymphknoten nachweisbar [84].

2.1.4 Ätiologie des Tonsillenkarzinoms

Das TCa ist eine Erkrankung des fortgeschrittenen Lebensalters. Dreiviertel aller Patienten sind älter als 60 Jahre. Das Geschlechtsverhältnis beträgt 3 : 1 bis 4 : 1 (♂ : ♀) [5, 84]. Insgesamt wird in den letzten Jahren eine erhöhte weibliche Morbidität festgestellt, die auf geänderte Rauch- und Trinkgewohnheiten zurückgeführt werden kann. Für das TCa spielen die exogenen Karzinogene Alkohol und Tabak eine große Rolle die bei Zusammentreffen mit schlechter Mundhygiene ein erhöhtes Karzinomrisiko ergeben.[14, 22].

2.1.5 Diagnose und Therapie des Tonsillenkarzinoms

Die Diagnose des TCa birgt für den erfahrenen Arzt i.d.R. keine Schwierigkeiten. Allerdings tritt eine deutliche Symptomatik aufgrund der topographischen Lage der Tp erst spät und bei großer Tumorausdehnung auf. Als Haupt-

symptome geben die Patienten Halsschmerzen, Schluckbeschwerden bzw. ein Kloßgefühl im Hals an. Bei bereits stattgehabter regionaler Metastasierung wird eine einseitige Verdickung am Hals bemerkt.

Die Diagnosestellung erfolgt aufgrund der klinischen Symptomatik und wird durch eine Probeexzision der betroffenen Tonsille histologisch gesichert.

Die Behandlung der TCa ist wegen der besonderen anatomischen Verhältnisse, der geringen Strahlensensibilität und der noch geringeren Empfindlichkeit gegenüber Chemotherapie eine Herausforderung. Das Zusammentreffen von Luft- und Speiseweg im Oropharynx bedarf einer funktionsgerechten Anatomie, die häufig der notwendigen Radikalität im Wege steht [84].

Als Therapieformen werden heute die kombinierte radiochirurgische Behandlung, die alleinige Radiatio sowie eine anteriore primäre Chemotherapie oder eine intraarterielle- oder simultane Radiochemotherapie durchgeführt.

Ist der Tumor auf die Tonsille beschränkt, wird eine Tumortonsillektomie, bei größerer Tumorausdehnung eine Monobloc-Resektion durchgeführt [28, 73]. Dabei wird eine Tonsillektomie sowie die gleichseitige Lymphknotenausräumung am seitlichen Halsdreieck, d.h. eine modifizierte "neck-dissection" vorgenommen. Im Rahmen einer radikalen "neck-dissection" wird neben den Lymphknoten auch die Vena jugularis interna mitresiziert.

Allen Operationen wird eine Nachbestrahlung angeschlossen. Einige Autoren beschreiben auch die Anwendung einer präoperativen Strahlentherapie [4, 28, 76]. Inoperable Tumoren werden entweder nur bestrahlt (60 Gy) oder primär nur zytostatisch behandelt [13, 23, 28, 76]. Als Chemotherapie wird meist eine Kombination von Cisplatin, Bleomycin und Methotrexat angewendet. Die Prognose des TCa ist aufgrund

der meist späten Diagnosestellung schlecht. Die 5-Jahres-überlebensrate bei Tumoren ohne palpable Lymph-knoten liegt bei 50 - 60% . Bei bereits befallenen Lymphknoten reduziert sich die 5 -Jahresüberlebensrate auf 20 bis 40 % [4, 28, 73, 84].

Die Einteilung der Tumoren erfolgt nach dem TNM-System der UICC, wodurch eine lückenlose Erfassung von Primärtumor, lokaler Lymphknotenmetastasierung und Fernmetastasierung möglich ist (Tab. 2.1).

Stadienklassifizierung

T:	Primärtumor
T.I.S.:	Präinvasives Karzinom (Carcinoma in situ)
T0:	Primärtumor nicht erkennbar
T1:	Tumor unter 2 cm in seinem größten Durchmesser
T2:	Tumor 2-4 cm
T3:	Tumor größer als 4 cm
T4:	Tumor mit Einbruch in Knochen, Muskel, Haut, Kieferhöhle, Halsweichteile.
N:	Regionäre Lymphknoten
N0:	Keine palpablen regionären Lymphknoten
N1:	Bewegliche homolaterale Lymphknoten
N2:	Bewegliche kontralaterale oder bilaterale Lymphknoten
N3:	Fixierte regionäre Lymphknoten
M:	Fernmetastasen
M0:	Fernmetastasen nicht nachweisbar
M1:	Fernmetastasen nachweisbar
Mx:	Die Minimalbedingungen (Klinische Untersuchung und Röntgenuntersuchung) zur Festlegung der M-Kategorie können nicht erfüllt werden.

Tab. 2.1 Einteilung des TNM-Systems nach UICC

2.2 Patientengut

Untersucht wurden Proben von 53 Patienten, die an einem Tonsillenkarcinom erkrankt waren (Tab. 2.3.). Bei allen Patienten war die Dignität der Neubildung durch eine Probeexzision der befallenen Tonsille histologisch gesichert. Das Tumorstadium nach dem TNM-System der UICC-Klassifizierung (cf. Tab. 2.1) wurde zunächst klinisch festgelegt. Bei Patienten, die primär operiert wurden, konnte der klinische durch den histologischen Befund ergänzt werden. Das Patientengut wurde für diese Studie nach histologischen Differenzierungsgraden nach Broders [10] eingeteilt, um dessen Einfluß auf eine Prognose zu untersuchen (Tab. 2.2).

Die Untersuchungen wurden ausschließlich an peripheren T-LSP durchgeführt. Alle Patienten wurden vorher über die Art der Untersuchung (Blut- bzw. Abstrichentnahmen) sowie über deren Zweck genau informiert und waren mit den Blut- bzw. Abstrichentnahmen einverstanden.

Tabelle 2.3 enthält alle in dieser Studie untersuchten Patienten. Aufgeführt sind das jeweilige Alter bei Diagnose, Geschlecht, Tumorstadium nach TNM-System, sowie das histologische Grading [10].

Histologische Differenzierungsgrade

Grad I	hochdifferenziertes Karzinom
Grad II	mässig differenziertes Karzinom
Grad III	entdifferenziertes Karzinom

Tab. 2.2 *Histologische Differenzierungsgrade nach Broders*

Patient	Alter	Geschlecht	Tumorstadium	Histo- logischer Diff.-Grad
1	41	m	T3, N2, Mo;	I
2	50	m	T3, N2, Mo;	I
3	61	m	T1, No, Mx;	I
4	52	w	T1, N2, Mo;	I
5	55	m	T2, N1, Mo;	I
6	74	m	T3, N2, Mx;	I
7	62	m	T2, N1, Mo;	I
8	76	w	T2, No, Mo;	I
9	37	m	T3, N2, Mo;	II
10	66	m	T3, No, Mo;	II
11	73	m	T2, N1, Mo;	II
12	73	w	T1, No, Mx;	II
13	64	m	T3, N2, Mo;	II
14	43	m	T3, N3, Mo;	II
15	52	m	T2, N1, Mx;	II
16	81	w	T2, No, Mo;	II
17	63	w	T2, N1, Mo;	II
18	55	m	T2, No, Mo;	II
19	51	m	T3, N2, Mo;	II
20	53	m	T2, No, Mo;	II
21	48	m	T2, N1, Mo;	II
22	69	m	T2, No, Mo;	II
23	47	w	T2, N1, Mo;	II
24	50	m	T3, N2, Mo;	II
25	47	m	T2, No, Mo;	II
26	67	m	T2, N1, Mo;	II
27	38	m	T3, No, Mo;	II

Tab. 2.3 Patientengut - Grunddaten

Patient	Alter	Geschlecht	Tumorstadium	Histo- logischer Diff.-Grad
28	59	m	T1, No, Mo;	II
29	60	w	T4,N2,Mo;	II
30	60	w	T1,N2,Mo;	II
31	66	w	T2,No,Mx;	II
32	40	m	T2,N1,Mo;	II
33	42	w	T1,N2,Mo;	II
34	70	m	T3,N1,Mo;	II
35	56	w	T2,N1,Mx;	II
36	65	m	T2,N1,Mo;	II
37	60	m	T2,N1,Mo;	II
38	74	m	T2,N3,Mo;	II
39	38	m	T2,N1,Mo;	II
40	43	m	T3,No,Mo;	II
41	72	w	T2,N1,Mo;	II
42	51	m	T2,No,Mo;	II
43	59	w	T3,No,Mo;	II
44	59	w	T2,N3,Mo;	II
45	64	m	T3,N2,Mo;	II
46	60	m	T3,No,Mo;	III
47	66	m	T2,No,Mo;	III
48	69	m	T2,N1,Mo;	III
49	53	m	T2,No,Mo;	III
50	75	w	T3,No,Mo;	III
51	69	w	T3,N2,Mo;	III
52	48	m	T3,N1,Mx;	III
53	71	m	T1,N2,Mo;	III

Tab. 2.3 Patientengut - Grunddaten

2.2.1. Alters- und Geschlechtsverteilung

Das Alter der untersuchten Patienten mit Tonsillenzarzinom lag zwischen 37 und 81 Jahren. Von 53 Patienten waren 15 (28%) weiblichen, 38 (72%) männlichen Geschlechts. Die höchste Morbidität lag in der Altersgruppe der 50 bis 60-Jährigen; dieses gilt für beide Geschlechter gleichermaßen. Die Patienten, die im Alter unter 40 Jahren erkrankten, waren alle männlich. In der Altersgruppe der über 70-jährigen Patienten, lag der Anteil der Frauen bei 55%, in allen übrigen Altersgruppen zwischen 20% und 45%.

Abbildung 2.1. zeigt die Alters- und Geschlechtsverteilung des untersuchten Patientenguts. Der Anteil der männlichen und weiblichen Patienten wurde je Altersgruppe gekennzeichnet.

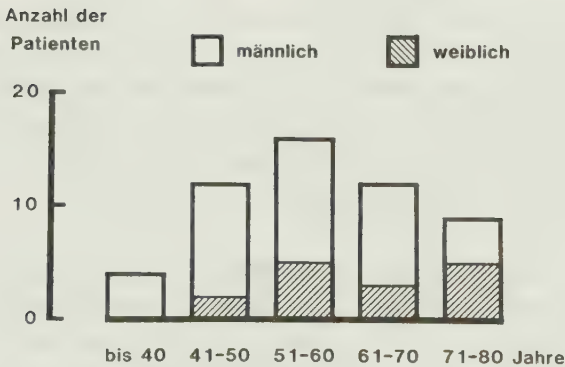


Abb. 2.1. Alters- und Geschlechtsverteilung des untersuchten Patientenguts
(n = 53, männl. 38, weibl. 15)

2.3. Material

2.3.1 Monoklonale Antikörper

Während der vergangenen fünfzehn Jahre wurden große Anstrengungen zur Erforschung der Funktion des Immunsystems im Rahmen der körperlichen Homöostase unternommen. Hyperimmunreaktionen einerseits und Immundepression andererseits treten im Zusammenhang mit vielen Krankheiten auf. Eine überschießende Immunreaktion charakterisiert das Bild der Allergie und der Autoimmunkrankheit [54, 103]; eine verminderte Immunantwort findet man bei bestimmten Infektionen [20], Immunschwäche [83] und Karzinomen [30].

Angeborene Immunkrankheiten wie das Di George- oder Netzelof-Syndrom und die Bruton-Agammaglobulinämie lieferten Hinweise auf Wichtigkeit und Funktion der mit ihnen verbundenen immunologischen Kompartments [88]. Untersuchungen an Mäusen bewiesen die Existenz von funktionell verschiedenen T-Zell-Untergruppen, die sich durch ihre Oberflächenantigene unterscheiden [12, 64]. Folgeuntersuchungen an menschlichen Lymphozyten mit absorbierten Heteroantisera bestätigten obige Ergebnisse, waren aufgrund technischer Schwierigkeiten jedoch nicht von großem praktischen Nutzen [71].

Ein wesentlicher Schritt zur Charakterisierung von Zellen und ihrer Oberflächenstrukturen wurde auf dem Gebiet der Immunologie durch die Entwicklung der Technik zur Herstellung von MAK erzielt; erstmals beschrieben 1975 von Köhler und Milstein [48]. Die Hybridisierungstechnik zur Herstellung von MAK ist z.B. in [31, 51, 80] hinreichend beschrieben.

Abbildung 2.2 zeigt ein allgemeines Schema für die Gewinnung von MAK aus Lymphozytenhybridomen [1, 53, 67]. Die prinzipiell gut reproduzierbare Methode und die hohe Spezifität der MAK führte zu einem starken Anstieg ihres Einsatzes in Klinik und Wissenschaft.

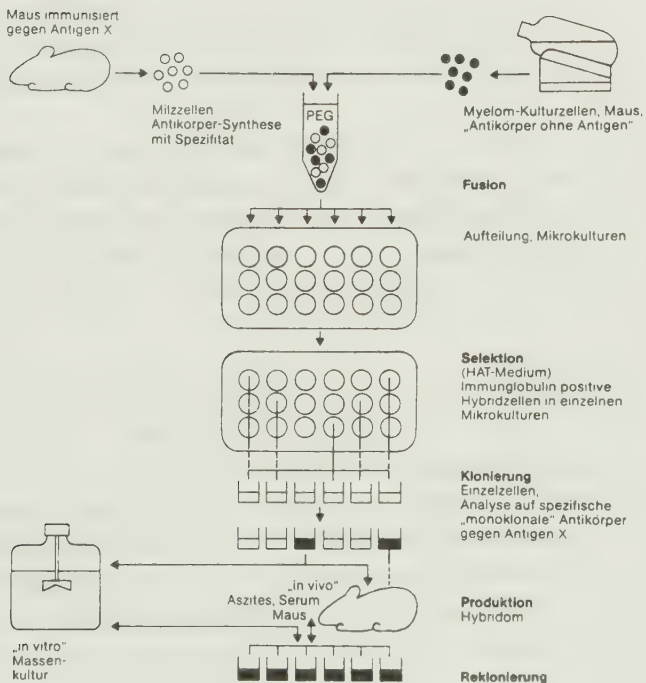


Abb.2.2 Schema der Erzeugung von monoklonalen Antikörper produzierenden Hybridomen (modifiziert nach [67]).

Für die Typisierung der menschlichen T-Lymphozyten (T-Ly), beginnend bei ihren Vorläuferzellen, über die Prägungsphase im Thymus, bis zur reifen peripheren T-Zelle konnte eine Kette von MAK erstellt werden [40]. Ebenso wurde es möglich, die Verteilung von B- und T-Zellen z.B. in Lymphknoten [7] und Tonsillen [41] zu beschreiben. Die Verteilungsmuster der Lymphozyten in beiden Organen ähneln einander.

Das gleichzeitige Vorhandensein CD 4- und OK Ia 1-positiver Zellen ¹⁾ könnte ein Hinweis auf die Funktion der B-Zellen bei Präsentation von Antigen zu T-Zellen sein [7, 41, 82].

Für die nachfolgend beschriebenen Messungen wurden MAK gegen Membranantigene von reifen T-Zellen ausgewählt, die sowohl die Gesamtheit der T-Zellen (OKT 3) als auch ihre Untergruppen (OKT 4 und OKT 8) charakterisieren. Zur Spezifität der MAK cf. Tab. 2.4..

2.3.2 Blut

Zum Zeitpunkt der Erstvorstellung und während des stationären Aufenthalts, sowie im Rahmen der Tumorsprechstunde wurde den Patienten jeweils 20 ml peripheres Blut steril entnommen (20 ml Einmalspritzen Fa. Braun-Melsungen; Einmalkanülen 16 G Fa. Braun-Melsungen).

1) OK Ia 1 : Warenbezeichnung der Firma Ortho Pharmac. Corp.

Dieser AK ist gegen eine Komponente des HLA-DR Antigenkomplexes gerichtet, der mit den Ia-Antigenen der Maus kreuzreagiert. Diese Ia ähnlichen humanen Antigene befinden sich auf den meisten B-Zellen, einigen Untergruppen der Monozyten, Makrophagen und Nullzellen, weiterhin werden ca 60% der aktivierten T-Zellen markiert [81, 91].

Die Gerinnung der Blutproben wurde durch Zusatz von Heparin in einer Dosis von 50 iE/ml Blut verhindert (Heparin-Natrium Braun, Fa. Braun-Melsungen). Die Blutproben wurden unmittelbar nach der Entnahme weiter verarbeitet. Aus 10 ml peripherem Blut wurden über einen Ficoll-Gradienten die Lymphozyten gewonnen (cf. 2.4.1). Die restlichen 10 ml Blut dienten zur Leukozytenzählung, sowie zur Anfertigung eines Blutausrichs (cf. 2.4.3).

2.3.3 Gewinnung und Aufarbeitung von Mundabstrichen

Bei einem Teil der untersuchten Patienten wurden im Rahmen der Diagnosestellung und der Nachsorge regelmäßig Mundabstriche angefertigt. Vor der Abstrichentnahme wurde durch gründliches Spülen der Mundhöhle mit Wasser Schleim und Verunreinigungen vom Abstrichgebiet entfernt. Durch mehrfaches Abstreichen der von dem Tumor befallenen Tonsillenlogen bzw. vom Operations- oder Bestrahlungsfeld mit Wattetupfern (Fa. Kemi-Interessen, Schweden), sollten möglichst viele Zellen gewonnen werden. Der Abstrich bestand aus in diesem Gebiet vorhandenen normalen Plattenepithelien oder Tumorzellen. Diese wurden bei noch nicht behandelten oder strahlentherapeutisch bzw. zytostatisch therapierten Patienten, oder bei Patienten mit neu aufgetretenen Rezidiven gefunden. Zur Kontrolle wurden Abstriche von der kontralateralen Seite entnommen. Die in der Watte haftenden Zellen wurden sofort in Reagenzgläsern mit 2 ml Hank'scher Lösung aufgeschüttelt, anschließend 3 mal in 10 ml Hankscher Lösung gewaschen und bei 1000 rpm zentrifugiert. Die Zellen wurden in weiteren Arbeitsgängen mit fluoreszein-markierten Antikörpern beladen.

2.4 Methode

2.4.1 Separation von T-Lymphozyten aus peripherem Blut

In Reagenzröhrchen aus Polypropylen (Fa. Greiner Labor-technik, Nürtingen) wurden jeweils 6 ml heparinisiertes Blut auf 4 ml steril abgefülltes Ficoll-Isopaque der Dichte: $d = 1,077$ (Fa. Seromed, München) geschichtet und für 20 min bei 4000 rpm zentrifugiert (Zentrifuge der Fa. Hettich Rotanta-K). Die Erythrozyten sowie ein Großteil der Granulozyten wurden auf diese Weise am Röhrchenboden sedimentiert (Abb 2.3). Das mononukleäre Konzentrat im Interphasenring zwischen Ficoll und dem überstehenden Plasma mit einem Lymphozytenanteil $> 80 \%$, konnte mit einer Pasteur-Pipette entfernt und in Waschmedium (0,9 % NaCl) resuspendiert werden. Anschließend wurde das mononukleäre Konzentrat durch dreimalige Zentrifugation bei 1000 rpm und Re-suspension in Waschmedium weiter gereinigt. Dabei wurde der Überstand mit einer Wasserstrahlsaugpumpe vorsichtig abgezogen und anschließend erneut Waschmedium zum Pellet hinzugegeben. Nach Abschluß des Waschvorgangs wurden die Lymphozyten auf 4 Falconröhrchen verteilt. In jedes Röhrchen wurden dabei 1×10^6 Zellen in 0,1 ml NaCl pipettiert und anschließend mit MAK inkubiert (2.4.2). Das Plasma wurde für die Markierung der Abstrichzellen benötigt.

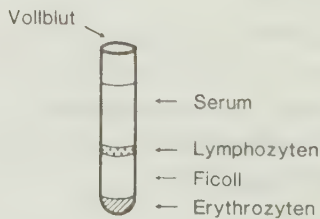


Abb. 2.3 Schematische Darstellung der Lymphozyten-Separation

2.4.2 Markierung der T-Lymphozyten mit monoklonalen Antikörpern

Es wurde eine sogenannte "indirekte Immunfluoreszenz-methode" angewandt. Dabei bindet in der ersten Phase ein primärer AK an einem Antigen der Zelloberfläche. Ein zweiter AK, der gegen den ersten gerichtet ist, bindet in der nächsten Phase an dessen Antigenstrukturen. Der zweite AK ist mit einer Substanz konjugiert, die entweder eine Anfärbung ermöglicht oder - wie im vorliegenden Fall - zur Fluoreszenz angeregt werden kann. Damit werden auf den Zellen definierte Antigenstrukturen "indirekt" sichtbar gemacht.

Zu je 1×10^6 mononukleären Zellen wurden jeweils 0,25 ml monoklonale Antikörper gegen T-Lymphozytensubpopulationen und B-Zellen hinzugegeben. Verwendet wurden monoklonale Antikörper der Firma Ortho Pharmaceutical Corporation (Raritan N.Y. 08869, USA) zur Markierung der T-Zellen und ihrer Untergruppen und Antiseren der Firma Oy Medix Helsinki zur Markierung der B-Zellen. Für alle MAK wurde die Verdünnung 1:30 verwendet. Über die Spezifität der jeweiligen Antiseren gibt Tabelle 2.4 Auskunft.

Antikörper	Spezifität
OKT 3	periphere menschliche T-Lymphozyten
OKT 4	T-Helfer/-Inducer Subpopulation
OKT 8	T-Suppressor/-zytotoxische Subpopulation
Clone 5201	B-Zellen

Tab. 2.4 Antiseren und ihre Spezifität

Antiseren und mononukleäre Zellen wurden bei Raumtemperatur 30 min. inkubiert und anschließend zweimal mit 4 ml 0,9 % NaCl gewaschen, bei 1000 rpm zentrifugiert und der Überstand abgesaugt. Danach wurden jeweils 50 µl FITC (Fluoreszeinisothiocyanat) markiertes Tago goat Antimouse IgG-Serum, Verdünnung 1:10 (Tago Inc. Immunodiagnostic Reagents, Burlingame, California USA) hinzuge tropft und die Lymphozytensuspensionen erneut 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Anschließend wurden die Lymphozytensuspensionen, wie oben beschrieben, gewaschen und sedimentiert, der Überstand mittels Wasserstrahlsaugpumpe abgehoben und das Pellet in 1 ml NaCl resuspendiert. Die Auszählung der positiven Lymphozyten pro 100 Zellen erfolgte mit einem Fluoreszenzmikroskop bei 40-facher Vergrößerung (Fa. Zeiss, Wetzlar) (cf. 2.4.6). Ausgezählt wurden jeweils 2 x 100 Zellen.

2.4.3 Leukozytenbestimmung und Blutausstrich

In dem heparinisierten Vollblut jedes Patienten wurden die Gesamtleukozyten bestimmt. Die Leukozytenbestimmung pro ml Blut wurde mit einem Hematology-Analyzer der Fa. Clay Adams Laboratory Instrumentation, Parsippany, N.J. USA durchgeführt.

Ebenfalls wurde aus dem Vollblut ein Blutausstrich angefertigt, der luftgetrocknet, nach Pappenheim gefärbt und unter einem Lichtmikroskop (Fa. Zeiss, Wetzlar) ausdifferenziert wurde.

2.4.4 Zytozentrifugenpräparat

Von den nach Separation des Vollbluts über einen Ficoll-Hypaque Gradienten erhaltenen mononukleären Zellsuspensionen, wurden von jeder Probe 2 x 20 µl entnommen und die Zellen mittels einer Zytozentrifuge (Cytospin Fa. Shandon Southern) auf einen Objektträger innerhalb eines Kreises von 0,5 cm Durchmesser konzentrisch aufgetragen. Die Präparate wurden ebenfalls luftgetrocknet, nach Pappenheim gefärbt und ausgezählt.

2.4.5 Abstrichzytologie

Die von den Tonsillenlogen der Patienten abgestrichenen Zellen (2.3.3) wurden auf 10^6 Zellen pro ml 0,9 % NaCl eingestellt. Jeweils 10^6 Zellen von einer Tonsillenloge wurden in zwei Falconröhrchen pipettiert. Zum Nachweis der Antigene auf den Tumorzellen bzw. der Antikörper in den Plasmen wurden jeweils zwei Tropfen der folgenden Lösungen hinzupipettiert:

- Zu einem der Falconröhrchen zwei Tropfen NaCl. Diese Probe diene als Kontrolle und bestimmt den Leerwert der Fluoreszenz.
- Zu den Zellen des zweiten Falconröhrchens wurden zwei Tropfen autologen Patientenserums hinzugegropft. Diese Probe diene dem Nachweis autologer Tumorantikörper gegen das Tonsillenzarzinom.

Die Proben wurden bei Raumtemperatur über 30 min inkubiert und anschließend zweimal mit 4 ml 0,9 % NaCl gewaschen.

Mit FITC (Fluoreszeinisothiocyanat) markiertes Antihuman-IgG von Kaninchen wird im Überschuß zugegeben (Anti-Human IgG, Fa. Behring, Marburg, Verdünnung 1:8). Die Inkubation erfolgt wiederum bei Raumtemperatur über 30 Minuten (Abb. 2.4). Nach zweimaligem Waschen mit 0,9 % NaCl und Absaugen des Überstands mittels Wasserstrahlpumpe, wurden die aufgeschüttelten Pellets in 1 Tropfen 0,9% NaCl resuspendiert und die Anzahl der fluoreszierenden Zellen pro 100 ermittelt. Die Auszählung erfolgte unter dem Fluoreszenzmikroskop in gleicher Weise wie bei den Lymphozyten (2.4.2, 2.4.6).

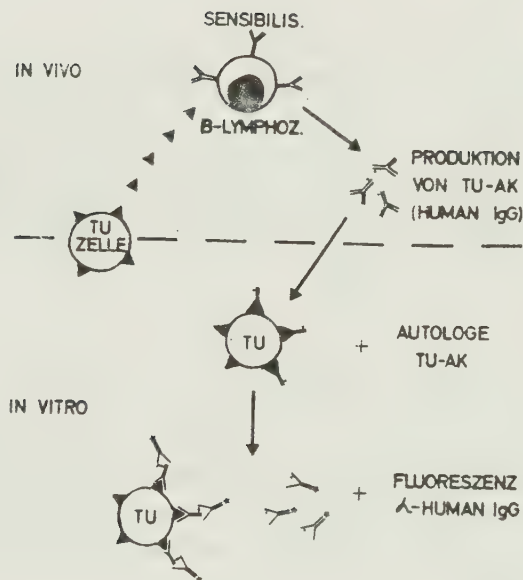


Abb.2.4 Schematische Darstellung der Abstrichzell-Immunfluoreszenz. Der Kontakt des Antigens mit B-Zellen führt zur Sensibilisierung derselben. Nach der Umwandlung in Plasmazellen werden Anti-Tumor-Antikörper produziert und in das Serum abgegeben. Bei der Inkubation von Tumorzellen und autologem Serum erfolgt die Antigen-Antikörperreaktion. Der Nachweis dieser Reaktion auf den Tumorzellen erfolgt mit FITC markiertem Antihuman IgG.

2.4.6 Fluoreszenzmikroskop

Dem Fluoreszenzmikroskop liegt eine einfache Anordnung von Lichtquelle und Filtersystem zugrunde (Abb. 2.5). Von einer Quecksilberdampfleuchte geht kurzwelliges Erregerlicht aus.

Der erste Filter erlaubt nur dem gewünschten Erregerlicht den Durchtritt, während die übrigen Lichtanteile absorbiert werden. Trifft das Erregerlicht auf die fluoreszenzfähigen Moleküle, so werden diese angeregt und strahlen nun Fluoreszenzlicht ab. Im Sperrfilter wird das ankommende Erregerlicht absorbiert und nur das Fluoreszenzlicht tritt durch den Sperrfilter hindurch und gelangt zur Beobachtung.

Als Beleuchtungsquelle dient eine 12 Volt und 100 Watt Quecksilberlampe (Absorptionsspektrum 300-600 nm). Zur Absorption wurde ein Rotfilter 38 Bq und ein Kurzpaßfilter Kp 500 verwendet. Das Dunkelfeld wurde mit einem Ölinversionskondensor erzeugt. Abgelesen wurde bei einer 40-fachen Vergrößerung mit einem Neofluar 40, 0,75 160/0,17-Objektiv.

Bei dieser Anordnung ergibt sich ein schwarzer Hintergrund, während sich die Zellen selbst in Rot darstellen. Die Fluoreszenz, hervorgerufen durch die Lichtanregung des FITC, leuchtet punktförmig apfelgrün auf. Das Absorptionsmaximum des FITC liegt bei 375 nm. Als fluoreszenz-positiv wurden solche Zellen gewertet, die mindestens drei Fluoreszenzpunkte aufwiesen. Ausgezählt wurden 2 mal 100 Zellen und der jeweilige Prozentsatz der positiven Zellen bestimmt.

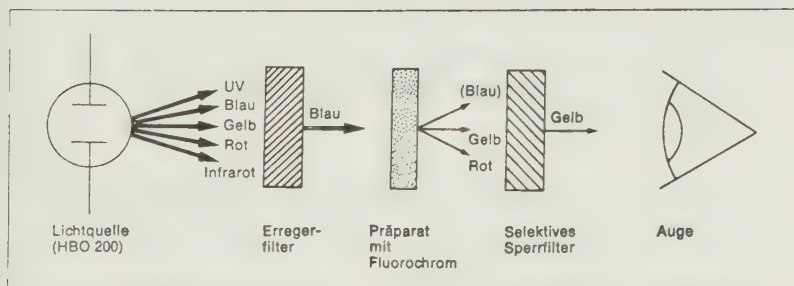


Abb. 2.5 Aufbau eines Fluoreszenz-Mikroskops (ohne Optik) für Blauanregung

2.5 Statistische Methoden

Die Analyse der erhobenen Daten wurde mit folgenden statistischen Methoden durchgeführt [85]:

1. Grundsätzlich wurden für alle Stichproben und Klassen das arithmetische Mittel und die Stichprobenvarianz ermittelt.
2. **Mehrere** unabhängige Stichproben wurden mit der Rangvarianzanalyse nach Kruskal und Wallis auf Unterschiede untersucht.
3. Der Vergleich **zweier** unabhängiger Stichproben wurde anhand des U-Tests nach Mann und Withney durchgeführt.
4. Für verbundene Daten wurde der Wilcoxon Test für Paardifferenzen angewandt.
5. Unabhängige Stichproben, deren Grundgesamtheit einer Normalverteilung unterliegt, wurden mit dem t-Test geprüft.
6. Zur Untersuchung stochastischer Zusammenhänge zwischen gleichwertigen Zufallsvariablen einer Stichprobe wurden Korrelationsanalysen durchgeführt. Der dabei errechnete Korrelationskoeffizient stellt eine Meßzahl für die Stärke und Richtung eines linearen Zusammenhangs dar.

Das jeweilige Signifikanzniveau wird stets bei der Darstellung der Ergebnisse angegeben.

3. Ergebnisse

Die vorab beschriebenen Untersuchungen wurden bei insgesamt 53 Patienten durchgeführt. Es folgt eine Zusammenfassung der Untersuchungsergebnisse der T-LSP und der B-Zellen, die für alle Patienten vorliegen, sowie der Immunfluoreszensteste, die zusätzlich bei 26 Patienten aus obigem Patientengut erfolgten.

3.1 Überlebensstatistik

3.1.1 Mortalität

Von den 53 an einem Tonsillenkarcinom erkrankten Patienten verstarben während des Beobachtungszeitraums von Januar 1982 bis Dezember 1985 24 Patienten (45,2 %). Jeder Todesfall war ursächlich auf die Grunderkrankung des Tonsillenkarcinoms zurückzuführen. Haupttodesursachen waren Tumorrezidive und Tumorkachexie. Die Todesfälle verteilen sich gleichmäßig auf alle Altersgruppen mit Ausnahme der bis zu Vierzigjährigen: alle in dieser Gruppe beobachteten Patienten verstarben innerhalb von zehn Monaten nach Diagnosestellung.

Die durchschnittliche Überlebenszeit (ÜZ) betrug 2,2 Jahre, dabei trat der früheste Todesfall 4 Monate, der späteste Todesfall 68 Monate nach Diagnosestellung auf.

Die ÜZ der Patienten sind in Abbildung 3.1 dargestellt. Auf der Abszisse wurden die ÜZ in Jahren nach Diagnosestellung aufgetragen, auf der Ordinate die Anzahl der Patienten. Die

obere Treppenkurve zeigt die ÜZ der Patienten, die untere Treppenkurve die eingetretenen Todesfälle nach Diagnosestellung auf.

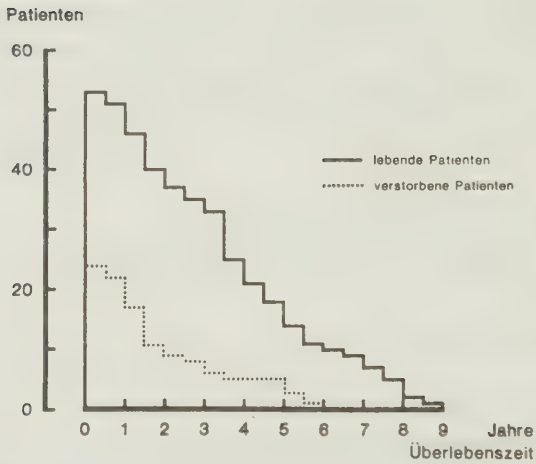


Abb. 3.1 Überlebenszeiten des untersuchten Patientenguts ($n = 53$)

3.1.2 Überlebenszeit von Tonsillen-Karzinompatienten in Abhängigkeit von Tumordifferenzierungsgrad und Tumorgroße

Diese statistische Auswertung umfaßt alle untersuchten Patienten. Die Berechnungen bis einschließlich 30.11.1985 basieren auf den Daten der jeweiligen Diagnosestellung und dem eingetretenen Todes- oder Überlebensfall. Untersucht wurde der Zusammenhang von ÜZ und Tumordifferenzierungsgrad, sowie von ÜZ und Tumorgroße.

Tu-Diff.-Grad	n	$\bar{x}$ (Überlebensmonate)	SD
I	8	71,63	17,55
II	37	43,83	29,11
III	8	24,88	12,87

Tab. 3.1 Mittelwerte ($\bar{x} \pm SD$) der Überlebenszeiten (Monate) von Patienten mit Tumoren der Differenzierungsgrade I-III

Tabelle 3.1 zeigt die Mittelwerte der Überlebensmonate aller Patienten bezogen auf den jeweiligen Tumordifferenzierungsgrad (TDG). Bei den Patienten mit TDG I wurde nach Diagnosestellung eine mittlere ÜZ von 71,6 Monaten beobachtet. 43,8 und 24,9 Monate ergaben sich als mittlere Überlebenszeiten der Patientengruppen mit TDG II respektive - III. Die beobachteten ÜZ der Patienten unterscheiden sich signifikant in Abhängigkeit von dem TDG (Rangvarianzanalyse nach Kruskal-Wallis, $p < 0,05$ [85]).

Insgesamt waren bis zum 30.11.1985 25 % der Patienten mit TDG I, 43,2 % mit TDG II und 75 % mit TDG III verstorben. Die Gesamtmortalität des Patientenguts beträgt 45,2 %.

Betrachtet man hingegen die Beziehung zwischen Tumorgroße und ÜZ der Patienten (vgl. Tab. 3.2), zeigt sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Patientengruppen. (Rangvarianzanalyse nach Kruskal-Wallis, $p < 0,05$ [85])

Tu-Größe	n	Überlebensmonate	
		$\bar{x}$	SD
T1	7	49,7	37,1
T2	26	46,7	27,3
T3, T4	20	41,6	28,4

Tab. 3.2 Mittelwerte ($\bar{x} \pm SD$) der Überlebenszeiten (Monate) von Patienten mit Tumoren der Größen T₁, T₂, T₃ und T₄

3.1.3 Korrelation von T-Lymphozytensubpopulationen mit den Überlebensmonaten der Patienten

Untersucht wurde die mögliche Beziehung zwischen den Stichprobenwerten der T-Lymphozyten und den Überlebensmonaten der Patienten, jeweils in den drei durch den Tumordifferenzierungsgrad unterschiedenen Gruppen. Diesem Vergleich liegt die Fragestellung zu Grunde, ob hohe Stichprobenwerte für die Gesamt-T-Lymphozyten (T_3) und die Helfer- / Inducerzellen (T_4) und zugleich niedrige Werte für die Suppressor- / Killerzellen (T_8) mit einer längeren Überlebenszeit einhergehen.

Die Korrelation der prozentualen Anteile der T-Lymphozyten bei Patienten mit Tumoren der Differenzierungsgrade I-III mit den Überlebensmonaten, ergaben zwar einen positiven Regressionskoeffizienten, jedoch eine mathematisch nur mäßige Korrelation. Die große Streuung bei allen LSP sowie den Überlebensmonaten, läßt keine gesicherte Aussage über die vermutete Beziehungen zu.

3.1.4 Positive Abstrichzytologie und Überlebensrate der Patienten

Wie oben bereits erwähnt wurde bei 26 Patienten dieser Studie im Rahmen der Tonsillen-Karzinomsprechstunde neben der klinischen Untersuchung und der T- und B-Zellbestimmung auch ein Abstrich von dem Tumor, der Operationsnarbe bzw. der bestrahlten und der kontralateralen Tonsillenloge entnommen und in der vorher beschriebenen Weise behandelt und ausgewertet. Die hierbei über 14 Monate gewonnenen Ergebnisse und der gesamte Verlauf bei diesen Patienten sind in Tabelle 3.3 dargestellt. Aufgeführt sind die 26 Patienten und ihr Alter bei Diagnose. Die Testergebnisse positiv (+), negativ (-) und fraglich (0) sind in zeitlichem Zusammenhang aufgeführt.

Ebenso vermerkt sind Todesdatum (†) und die Überlebenszeit seit Diagnosestellung bis einschließlich November 1985.

Patient	Alter bei Erst- behandlung					Überleben seit OP bis 1'86
		1982	1983	1984	1985	
A	66	- - -				89 Mo.
B	52	- - - -				91 Mo.
C	66	+ + + - -				93 Mo.
D	53	- - + - -				62 Mo.
E	68	- - +	Re.			76 Mo.
F	64	+ o - -	+ Re† (gestorben)			28 Mo.
G	59	- o - -				70 Mo.
H	58	+ o o - -				96 Mo.
I	66	- - - -	o + Re	† (gestorben)		66 Mo.
J	66	- - - o +		† (gestorben)		43 Mo.
K	41	- - o - -				67 Mo.
L	55	- - - o +			† (gest)	57 Mo.
M	70	- - - -	+ +		† (gest)	69 Mo.
N	61	+ + + Re		† (gestorben)		15 Mo.
O	72	o + † (gestorben)				39 Mo.
P	42	+ o + R +	† (gestorben)			12 Mo.
Q	50	- - - -	-			84 Mo.
R	60	- o - oo +	+ † (gestorben)			16 Mo.
S	52	- - - - -				51 Mo.
T	61	- - o + Re		† (gestorben)		28 Mo.
U	48	+ o + + Re† (gestorben)				12 Mo.
V	48	- - o -				67 Mo.
W	51	- - -				102 Mo.
X	59	- o - -				55 Mo.
Y	72	- - o -				58 Mo.
Z	52	+ + Re + † (gestorben)				8 Mo.

Tab 3.3. Untersuchungsverlauf und Überlebenszeit von Patienten (n = 26), von denen über 14 Monate Abstrichzytologien angefertigt wurden

- + positives Testergebnis
- negatives Testergebnis
- o indifferentes Testergebnis
- Re Rezidiv
- † Patient gestorben

Von den 26 Patienten wurde ein Patient nur operiert, ein weiterer primär bestrahlt; alle übrigen 24 Patienten erhielten eine kombinierte operative- und Strahlentherapie.

Das Durchschnittsalter bei Diagnose betrug 58,1 Jahre; der jüngste Patient war 41 Jahre, der älteste 72 Jahre. Die durchschnittliche ÜZ beträgt 55,9 Monate, wobei die kürzeste ÜZ 8 und die längste 102 Monate betrug.

Bei allen bis November 1985 verstorbenen Patienten ergab die zuletzt durchgeführte Abstrichzytologie zuvor positive Werte. Bis zum Ende des Beobachtungszeitraumes waren 12 Patienten (46 %) verstorben, 14 Patienten (54 %) lebten noch. Unter Einbeziehung der im November 1985 noch lebenden Patienten ergibt sich die in Abb. 3.2 dargestellte Verteilung der Überlebensmonate.

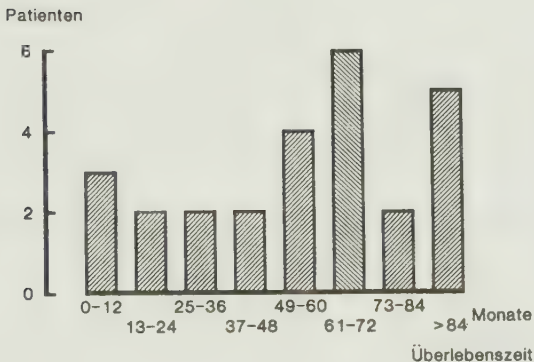


Abb. 3.2 Überlebensmonate der Patienten ($n = 26$) von denen Abstrichzytologien angefertigt wurden.

3.2 T-Lymphozytensubpopulationen bei allen Patienten

3.2.1 T-Lymphozytensubpopulationen und Tumordifferenzierungsgrad

Eine Einteilung der Karzinome der untersuchten Patienten nach histologischen Differenzierungsgraden in hochdifferenzierte (I), mäßig differenzierte (II) und entdifferenzierte (III) Tumoren nach Broders [2, 10, 63, 79], ermöglicht die Untersuchung des Zusammenhanges gruppenspezifischer Unterschiede von T-Zellsubpopulationen im peripheren Blut. Tabelle 3.4 zeigt Mittelwerte und Standardabweichungen für die Untersuchungsergebnisse der drei Gruppen.

Diff. Gr.	n	CD 3 $\bar{X}$	CD 3 SD	CD 4 $\bar{X}$	CD 4 SD	CD 8 $\bar{X}$	CD 8 SD
I	8	43,65	9,42	23,90	5,80	15,41	10,63
II	36	38,56	10,37	25,94	7,32	14,32	4,91
III	9	33,94	13,08	23,40	9,50	18,53	5,86

Tab 3.4 T-Lymphozytensubpopulationen im peripheren Blut von Patienten mit Tumoren der Differenzierungsgrade I-III nach Broders

Die Mittelwerte der drei LSP berechnet über alle Untersuchungsdaten, zeigen keinen signifikanten Unterschied zwischen den Patienten mit verschiedenen TDG. Die Gesamt-T-Lymphozyten, markiert durch CD 3 weisen zwar einen fallenden Mittelwert von Differenzierungsgrad I nach II und III auf (43,65 bei Gruppe I; 38,56 bei Gruppe II; 33,94 bei Gruppe III), dieser beobachtete Unterschied ist jedoch ebenfalls nicht signifikant. Getestet wurden jeweils die Werte zweier TDG gegeneinander; sowohl für die Gesamt-T-Zell-

Werte als auch für die CD 4 - und CD 8 -positiven Zellen. Die Hypothese, die Stichproben stammten aus unterschiedlichen Grundgesamtheiten mit unterschiedlichen Mittelwerten, konnte auf dem Signifikanzniveau von 0,05 nicht angenommen werden (Rangvarianzanalyse nach Kruskal-Wallis [85]). Die TDG I-III spiegeln bei Betrachtung aller erhobener Daten keine unterschiedliche Ausprägung innerhalb einer T-LSP wieder.

3.2.2 T-Lymphozytensubpopulationen und Tumorgroße

Es besteht kein Zusammenhang zwischen den Mittelwerten der peripheren Blut-T-LSP und Tumorgroße. Tabelle 3.5 zeigt die Untersuchungsergebnisse in der Einteilung nach Tumorgroße.

Tu- Größe	n	CD 3 $\bar{X}$	CD 3 SD	CD 4 $\bar{X}$	CD 4 SD	CD 8 $\bar{X}$	CD 8 SD
T1	7	35,56	12,03	22,06	6,43	19,01	7,37
T2	27	40,23	11,61	25,92	7,83	14,98	6,85
T3 u. T4	19	37,42	9,64	25,33	7,39	14,53	4,78

Tab. 3.5 T-Lymphozytensubpopulationen im peripheren Blut von Patienten mit Tumoren der Größe T₁, T₂, T₃ und T₄

Die unterschiedlichen Ausprägungen der Mittelwerte der T-LSP für die Tumorgößen T1, T2, T3 und T4 müssen als zufällig bewertet werden. Der entsprechende Test über die Stichprobenergebnisse führt zur Ablehnung der Hypothese, die Mittelwerte der Tumorgößen würden sich voneinander unterscheiden (Rangvarianzanalyse nach Kruskal-Wallis [85]).

3.2.3 T-Lymphozytensubpopulationen und Tumordifferenzierungsgrade vor Therapie

Die in Abschnitt 3.2.1 und 3.2.2 durchgeführten Analysen der Patientendaten über den gesamten Beobachtungszeitraum ließen keinen wesentlichen Einfluß der TDG oder der Tumorgroße auf die quantitativen Unterschiede der T-Zellsubpopulationen (T-LSP) erkennen.

Im Gegensatz dazu, ergeben die *vor Therapie* erhobenen Daten der peripheren T-LSP in Beziehung zu den TDG signifikante Unterscheidungen der Gruppenmittelwerte voneinander (Tab. 3.6) (U-Test nach Mann-Withney, $p \leq 0,001$ [85]). Die Werte für CD 3 und CD 4 nehmen von TDG I nach III ab; die Werte für CD 8-markierte Zellen steigen gegenläufig dazu an.

Diff. Gr.	n	CD 3 $\bar{X}$	CD 3 SD	CD 4 $\bar{X}$	CD 4 SD	CD 8 $\bar{X}$	CD 8 SD
I	8	53,00	2,4	35,2	5,1	10,0	2,0
II	19	49,50	2,7	28,5	2,6	16,8	2,4
III	9	39,80	2,6	20,8	3,2	27,6	5,1

Tab. 3.6 T-Lymphozytensubpopulationen vor Therapie im peripheren Blut von Patienten mit Tumoren der Differenzierungsgrade I-III nach Broders

Die in Tabelle 3.6 aufgeführten Daten sind in Abbildung 3.3 graphisch dargestellt. Die LSP-Werte für CD 3- und CD 4-positive T-Lymphozyten nehmen von TDG I nach TDG III ab, wohingegen die CD 8-positiven T-Lymphozyten von TDG I nach III zunehmen.

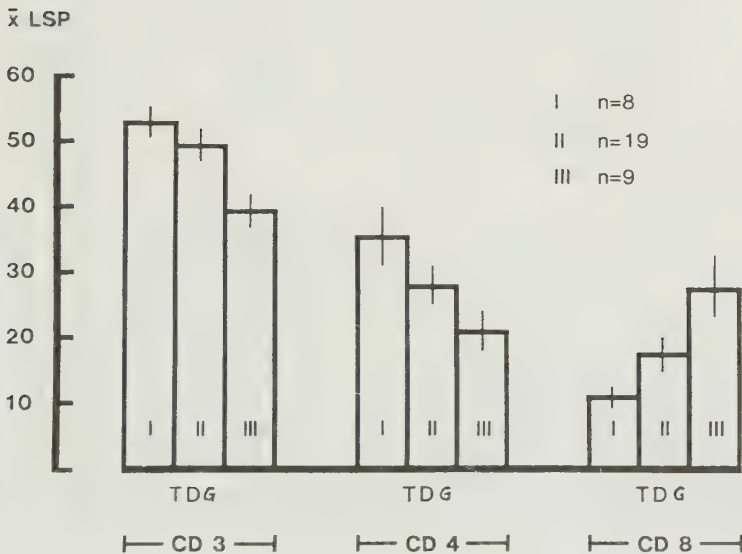


Abb. 3.3 T-Lymphozytensubpopulationen im peripheren Blut bei Patienten der Differenzierungsgrade I - III nach Broders vor Therapie.

3.2.4 T-Lymphozytensubpopulationen und Tumorgroße vor Therapie

Auch die Mittelwerte der T-Zellsubpopulationen der Patienten mit Tumorgroße T1 unterscheiden sich vor Therapie signifikant von jenen mit Tumorgroße T2 und T3/T4.

Tabelle 4.7 zeigt die Stichprobenmittelwerte der LSP je Tumorgroße. Die Gesamt-T-Lymphozyten (CD 3) bei Patienten mit T2-Tumoren unterscheiden sich gegenüber denen mit T3/T4-Tumoren nicht signifikant. In allen anderen Gruppen liefert der Test auf unterschiedliche Mittelwerte ein signifikantes Ergebnis (U-Test nach Mann-Whitney; $p \leq 0,001$. [85].)

Tu-Gr.	n	CD 3 $\bar{X}$	CD 3 SD	CD 4 $\bar{X}$	CD 4 SD	CD 8 $\bar{X}$	CD 8 SD
T1	9	53	2,5	33	4,5	10,4	1,7
T2	14	43,8	5,2	26,5	4,5	18,5	2,7
T3/4	13	42,5	2,9	22,0	2,9	24,6	5,8

Tab. 3.7 T-Lymphozytensubpopulationen im peripheren Blut der Patienten mit Tumoren der Größen T₁, T₂, T₃ und T₄

Die in Tabelle 3.7 aufgeführten Daten der LSP-Mittelwerte je Tumorgroße sind in Abbildung 3.4 nochmals graphisch dargestellt. Die praetherapeutischen Verteilungsmuster der LSP sind je Tumorgroße verschieden:

Bei Tumoren der Größe T1 entspricht die Verteilung nahezu der eines Normalkollektivs. Für T2-Tumoren liegen die CD 3 und CD 4, Gesamt-T-Zellen und T-Helfer-/ Inducerzellen, niedriger, während die CD 8, Suppressor- und zytotoxische Zellen, hoch sind. Dieses trifft noch ausgeprägter für die LSP-

Verteilung bei Tumoren der Größe T3 und T4 zu. Abbildung 3.4 verdeutlicht die fallende Tendenz von OKT 3- und OKT 4-positiven Zellen bei steigender Tumormasse, während die OKT 8-positiven Zellen bei größeren Primärtumoren ansteigen.

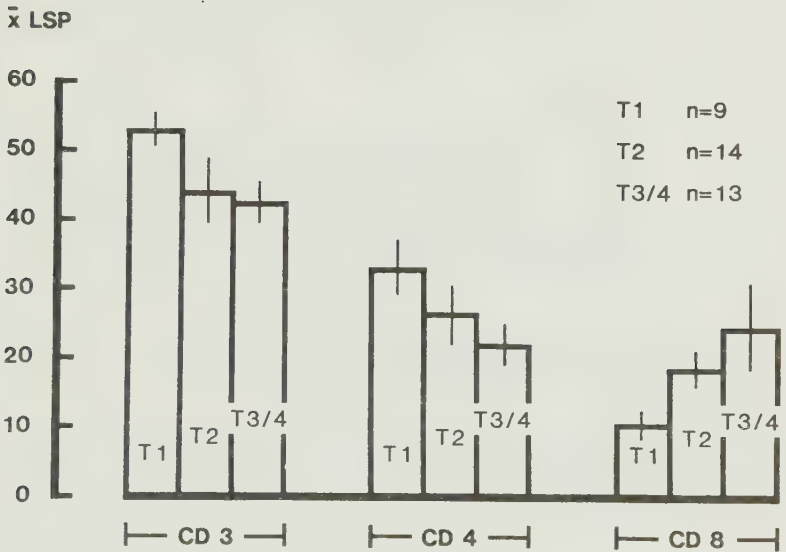


Abb 3.4 T-Lymphozytensubpopulationen im peripheren Blut bei Patienten mit Tumoren der Größen T₁, T₂, T₃ und T₄ vor Therapie

3.3 T-Lymphozytensubpopulationen bei Patienten unter Zytostatikatherapie

Bei fünf Patienten mit Tumoren des Stadiums T3 oder T4, die alle inoperabel waren, wurden zum Zeitpunkt der Diagnose und während der drei Therapiezyklen (Caradonna-Schema [6]) der Verlauf der peripheren T-Lymphozytenwerte beobachtet. Die relativen Werte der T-Lymphozyten wurden unter Berücksichtigung der immer gleichzeitig bestimmten Leukozytenzahl und der Blutzellen des Differenzialblutbildes in absolute Zahlen rückgeführt.

Abbildung 3.5 zeigt die gemittelten T-Zellwerte der fünf Patienten im Verlauf. Auf der x-Achse sind die Untersuchungstage, auf der y-Achse die absoluten T-Zell-Mittelwerte dargestellt. Der Beginn eines Chemotherapiezyklus wurde jeweils durch Unterbrechung der LSP-Kurve gekennzeichnet.

Aus Abbildung 3.5 lassen sich folgende Entwicklungen ablesen:

1. Die Ausgangswerte der T-LSP liegen vor Chemotherapie deutlich höher als in den therapiefreien Intervallen (je drei Wochen).
2. Alle T-Lymphozyten fallen während der Chemotherapie ab, die einzelnen Subpopulationen allerdings in unterschiedlichem Maße.
3. Unter Therapie nehmen die T-Helfer- / Inducerzellen niedrigere Werte an als die T-Suppressor- und zytotoxischen Zellen.

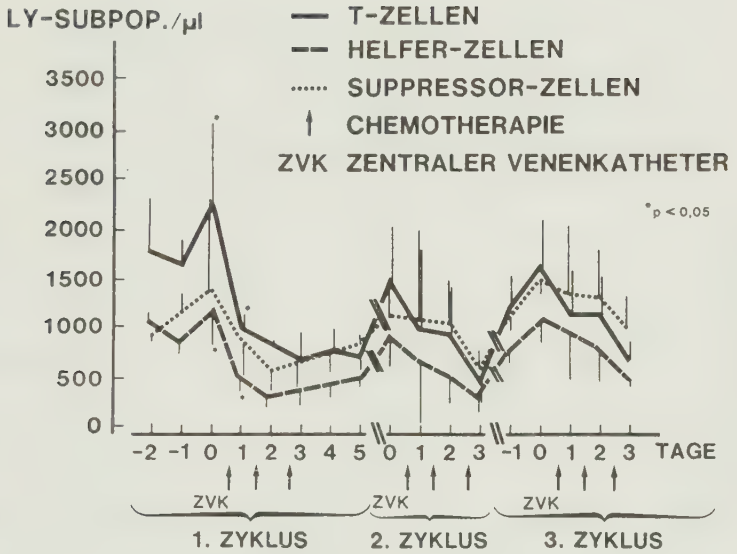


Abb. 3.5 Mittelwerte von T-Lymphozytensubpopulationen im peripheren Blut von Patienten unter Chemotherapie.

3.4 T-Lymphozytensubpopulationen vor und nach Therapie

Die Hypothese, die Therapie habe einen wesentlichen Einfluß auf die Werte der T-Lymphozytensubpopulationen; wurde bei Patienten unabhängig von deren jeweiligen Tumordifferenzierungsgrad und der Tumorausdehnung untersucht. Bei allen hier betrachteten Patienten wurde eine kombinierte radiochirurgische Behandlung durchgeführt.

Zeitpunkt d. Unter- suchung	CD 3 $\bar{X}$	CD 3 SD	CD 4 $\bar{X}$	CD 4 SD	CD 8 $\bar{X}$	CD 8 SD
vor Therapie	46,5	6,1	26,9	6,6	19,8	8,3
nach Therapie	28,2	10,3	15,3	5,7	16,5	7,5

Tab. 3.8 T-Lymphozytensubpopulationen im peripheren Blut von Patienten vor und nach Therapie (n = 22)

Nach der Therapie lagen die Mittelwerte aller T-Lymphozytensubpopulationen signifikant unter den Ausgangswerten vor Therapie (Wilcoxon-Test für verbundene Daten, $p < 0,01$ [85]). Die Mittelwerte für die CD 8-positiven Zellen zeigten eine geringe Differenz; d.h. sie erfuhren unter Therapie eine geringere Veränderung, als die Gesamt-T-Zellen und die T-Helferzellen (Tab. 3.8).

3.5 Beziehung der Veränderung von Gesamt-T-Lymphozyten und B-Zellen (Regressionsanalyse)

Die B-Zellen wurden als Parameter der humoralen Abwehrlage der Patienten in allen Untersuchungen verfolgt. Die Mittelwerte der B-Zellen je Patient unterschieden sich weder bei Einteilung des Patientenguts nach Tumordifferenzierungsgraden, noch nach Tumorgößen signifikant voneinander. ($\bar{x} = 10,5$, $SD = 5,2$).

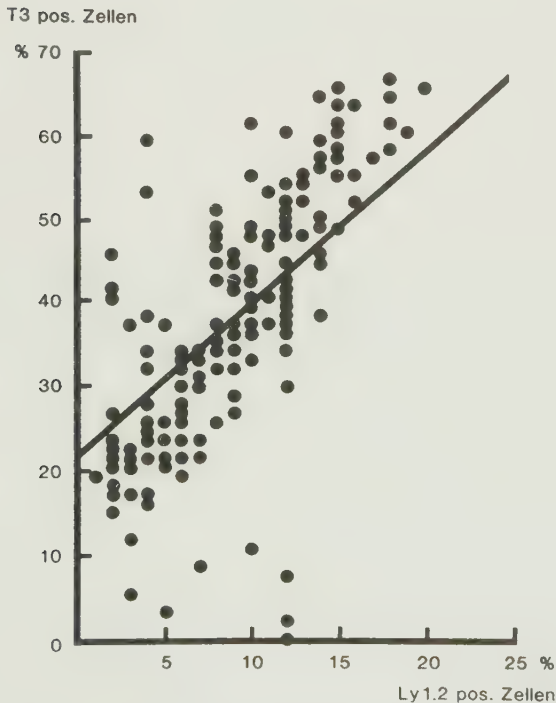


Abb. 3.6 Korrelation zwischen B-Zellen (x-Achse) und Gesamt T-Zellen (y-Achse) im peripheren Blut von Patienten mit Tonsillenkarzinom

Um eine mögliche Wechselwirkung von humoraler und zelluärer Abwehrlage zu untersuchen, wurden die B-Zellwerte und Gesamt T-Zellwerte korreliert.

Wie aus Abbildung 3.6 ersichtlich, besteht eine gerichtete Korrelation zwischen den Werten der B- und T-Zellen. Der empirische Korrelationskoeffizient beträgt $R = 0,62$. Dieser beschreibt eine positive Korrelation der getesteten Parameter.

3.6 Verhältnis von Helfer- zu Suppressor- und zytotoxischen Zellen bei Patienten mit Tonsillenkarzinom im Vergleich zu der Relation von Helfer- zu Suppressor- und zytotoxischen Zellen bei Normalpersonen

Um testspezifische Schwankungen der Ergebnisse der T-Lymphozytensubpopulationen auszuschließen wurden die Werte der Helfer- und Suppressor-/ zytotoxischen Zellen in Relation zu den Gesamt-T-Zellwerten der gleichen Untersuchung gesetzt. Der Einfluß des Tumors auf die physiologisch bestehende immunologische Homöostase zwischen Helfer- und Suppressor-/ zytotoxischen Zellen wurde anhand des Vergleichs der Quotienten von $T_H : T$ und $T_S : T$ bei Karzinompatienten und Normalpersonen untersucht.

	n	$T_H:T$ $\bar{X}$	$T_H:T$ SD	$T_S:T$ $\bar{X}$	$T_S:T$ SD
Tu-Patienten	53	0,65	0,17	0,46	0,21
Normalkollektiv	19	0,67	0,06	0,19	0,05

Tab. 3.9 Quotienten von Helfer- und Suppressor-/ zytotoxischen T-Zellen im peripheren Blut von Tumorpatienten (n = 53) und Normalpersonen (n = 19)

Tabelle 4.9 zeigt die Mittelwerte und Standardabweichungen der relativen Anteile der Helfer- und Suppressor-/ zytotoxischen T-Lymphozyten von Karzinompatienten einerseits und der Kontrollgruppe andererseits. Die Mittelwerte der Helfer-T-Lymphozyten der beiden Gruppen unterscheiden sich nur unbedeutend. Es besteht jedoch ein signifikanter Unterschied zwischen den Suppressor-/ zytotoxischen T-Lymphozyten der Karzinompatienten (0,46) und denen der Kontrollgruppe ($\bar{x} T_S$ Ca.Pat. vs. $\bar{x} T_S$ Testp. = 0,46 vs. 0,19). (T-Test, $p < 0,05$ [85]).

3.7 Abstrichzytologie und Suppressor/zytotoxische T-Lymphozyten

Bei 26 der 53 Patienten wurde neben dem Monitoring der LSP über einen Zeitraum von vierzehn Monaten eine Abstrichzytologie durchgeführt (cf. 2.4.5). Es wurde beobachtet, daß mit dem Auftreten autologer IgG-Antikörper, eine Erhöhung der Suppressor-/zytotoxischen Zellen einher ging. Die Korrelation dieser beiden Parameter wurde überprüft. Es ergab sich ein Korrelations-Koeffizient von $R = 0,8$, was einen starken positiven Zusammenhang ausdrückt.

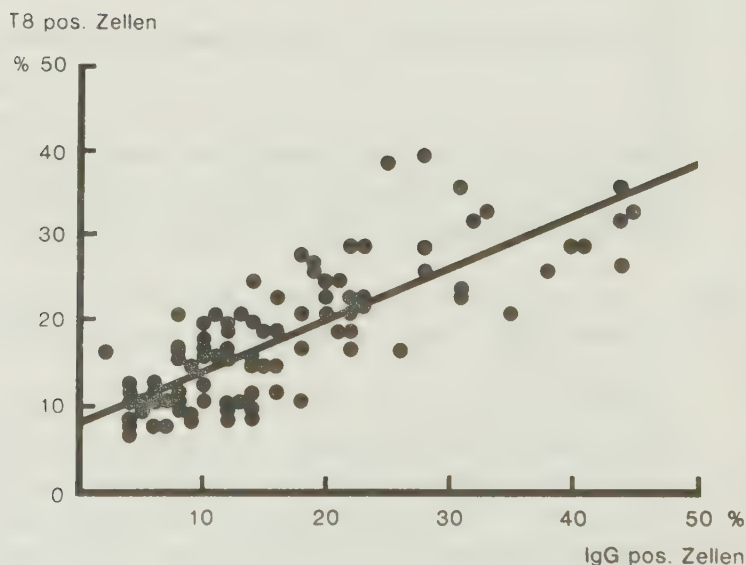


Abb. 3.7. Regressionsgerade bei Korrelation von IgG-positiven Abstrichzellen (x-Achse) und T8-positiven Lymphozyten im peripheren Blut (y-Achse).

3.8 Ausgewählte Patientenverläufe

Die übliche Therapieform bei den untersuchten Patienten besteht, wie bereits erwähnt, in einer kombinierten operativen- und strahlentherapeutischen Behandlung. Chemotherapie, alleinige Radiatio sowie präoperative Radiatio und alleinige Operation stellen die Ausnahmen unter den Therapieformen dar. Die Indikation zur primären Chemotherapie und der Verlauf der T-Lymphozyten-subpopulationen unter Zytostase bei fünf Patienten wurden in Abschnitt 3.3 beschrieben. Die beiden folgenden Patienten-Kasuistiken zeigen den Verlauf der T-Lymphozytenwerte bei alleiniger Operation sowie bei präoperativer Radiatio.

3.8.1 T-Lymphozytenwerte bei einem Patienten nach operativer Therapie

Patient H.J., 67 J., stellte sich im Rahmen der allgemeinen HNO-Poliklinik-Sprechstunde wegen eines vom Hausarzt geäußerten Verdachts auf Tonsillenkarzinom vor. Die Diagnose bestätigte sich klinisch und wurde zwei Tage später histologisch durch Probebiopsie gesichert. Das klinische Tumorstadium wurde als T₂N₀M₀ eingestuft. Weitere drei Tage später wurde der Patient operiert, wobei die Tumormasse makroskopisch im Gesunden entfernt werden konnte.

Die T-Lymphozyten wurden präoperativ und bis drei Wochen post operationem gezählt. Hierbei konnte beobachtet werden, daß die Ausgangswerte der Gesamt-T-Zellen präoperativ im unteren Normbereich lagen, die T-Helfer-/Inducerzellen ebenso und die Suppressor- / zytotoxischen T-Zellen darüber. Post operationem fielen die T- und T_H-Zellen

signifikant ab, die T_S -Werte änderten sich nur unwesentlich. Im weiteren Beobachtungsverlauf erholten sich die T - und T_H -Werte wieder, erreichten jedoch nicht den Ausgangswert; die T_S -Werte blieben weiterhin hoch. Der Patient stellte sich 6 Monate nach Therapie zur ambulanten Nachsorge vor. Die zu diesem Zeitpunkt erhobenen T - und T_H -Werte lagen weiterhin unterhalb des Normbereichs, die T_S -Werte lagen wie vor Therapie darüber. Klinisch bot sich kein Anhalt für ein Rezidiv.

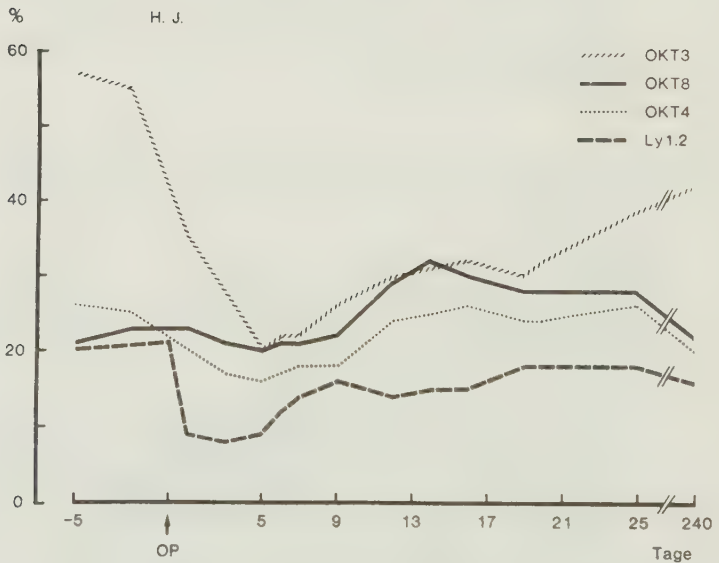


Abb. 3.8 Postoperativer Verlauf der T-Zellen im peripheren Blut eines Patienten mit alleiniger operativer Therapie

3.8.2 T-Lymphozytenwerte bei einem Patienten nach präoperativer Strahlentherapie

Patient L.J., 39 Jahre alt, stellte sich wegen dringenden Verdachts auf Tonsillenkarcinom in der Tumorsprechstunde der HNO-Poliklinik vor. Der Patient klagte über lang andauernde Heiserkeit bis hin zu starken Schluckbeschwerden, so daß er nur noch Breikost zu sich nehmen konnte. Die klinische Diagnose des Tonsillenkarcinoms wurde durch eine Probebiopsie histologisch gesichert. Das Tumorstadium wurde klinisch als T₃₋₄, N₂, M_x eingestuft. Aufgrund der Tumorgroße und des Lymphknotenbefalls wurde der Patient präoperativ bestrahlt mit einer Dosis von 30 Gy über 18 Tage und anschließend der operativen Therapie zugeführt.

Die beobachteten Werte der T-Lymphozyten lagen vor Therapie für T und T_H unter den Normalwerten, für T_S bereits hoch. Nach Beginn der Strahlentherapie fielen die T- und T_H-Werte stark ab, die T_S-Werte nur unwesentlich, sie lagen sogar höher als die T-Werte. Im bestrahlungsfreien Intervall nahmen die T- und T_H-Werte leicht zu, während die T_S-Werte gleich blieben. Post operationem ergaben sich wiederum stark gefallene T- und T_H-Werte und leicht niedrigere T_S-Werte. Der Patient wurde für zehn Tage entlassen, um sich zur weiteren Strahlentherapie mit 30 Gy wieder vorzustellen. Während dieser Therapie sanken die T- und T_H-Werte ab, die T_S-Werte bleiben weiterhin hoch. Nach Beendigung der Therapie bestand klinisch der Verdacht auf nur eine Teilremission. Der Patient verstarb sechs Wochen später im Zustand der Tumorkachexie.

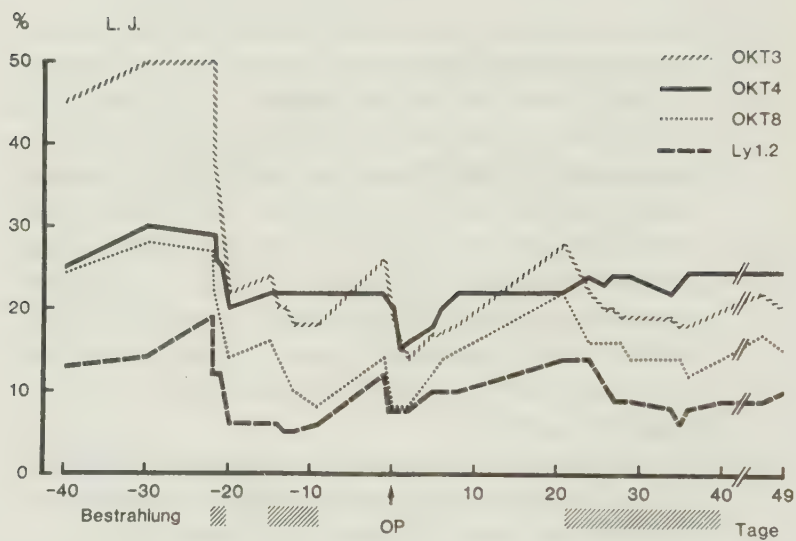


Abb. 3.9 T-Zellverlauf im peripheren Blut eines Patienten mit präoperativer Strahlentherapie

4. Diskussion

4.1. Morbidität

Die jährliche Erkrankungsrate an Plattenepithelkarzinomen des Oropharynx beträgt in der Bundesrepublik Deutschland 3,1 pro 100.000 Einwohner [49]. In den U.S.A. liegt ihr Anteil ebenso hoch, in Frankreich und in Ländern der Dritten Welt betragen die Vergleichszahlen unter Berücksichtigung der verschiedenen Statistiken etwa 6 bis 9 pro 100.000 [5, 49, 52, 84]. Der Anteil der Tonsillenkzinome an allen Krebs-erkrankungen liegt in den U.S.A. bei 0,4% , in Frankreich bei 1 - 1,5%, in der DDR bei 2,6% [8, 11, 17]. 70 - 85% aller Tonsillenkzinome sind Plattenepithelkarzinome [84].

Die höchste Mortalität an Oropharynxtumoren wird in Indien und Ceylon beobachtet [39, 52]. In Europa liegt Frankreich an der Spitze, die Bundesrepublik Deutschland mit an letzter Stelle . Das Geschlechtsverhältnis bei diesen Untersuchungen liegt zwischen 3:1 und 4:1 (σ/φ) [84]. Das Plattenepithelkarzinom der Tonsille tritt überwiegend im 5.-7. Dezenium auf [84].

Die Alters- und Geschlechtsverteilung der in dieser Studie untersuchten Patienten deckt sich mit Angaben in der Literatur [5, 84]. Das Plattenepithelkarzinom der Tonsille ist eine Erkrankung des höheren Lebensalters. Nur 7% der Patienten sind jünger als 45 Jahre [3]. Von den Patienten, die an dieser Studie teilnahmen, waren 4 (7%) unter 40 Jahre alt. Sie verstarben ausnahmslos innerhalb der ersten 10 Monate nach Diagnosestellung. Diese Beobachtung deckt sich mit der von Batsakis [5]., wonach das TCa im jüngeren Lebensalter selten auftritt, dann aber besonders bösartig ist.

Der Anteil der Männer in dieser Studie betrug 72%; in der Literatur liegt er zwischen 60% und 70% [5, 84]. Es scheint, daß das TCa bei Frauen insgesamt noch später auftritt als bei Männern. Wie in Abbildung 2.1 dargestellt, war der Anteil der weiblichen Patienten in der Altersgruppe der 70-80-jährigen mit 55% besonders hoch, während er sonst zwischen 20% und 45% lag.

4.2. Therapie und Überlebenszeit

Die durchschnittliche Überlebenszeit des untersuchten Patientenguts von 2,2 Jahren deckt sich mit den Angaben von Peres [76], Barrs [4], Givens [28] und Edstroem [21]. Als Therapiearten werden von den genannten Autoren die alleinige Bestrahlung für kleinere Tumoren (T1 und T2, No), für ausgedehnte Karzinome (T2-4, N1-N3) die prä- oder postoperative Radiatio in Kombination mit einer chirurgischen Sanierung angegeben. TDG werden von obigen Autoren nicht verwendet, so daß ein Vergleich von Daten auf dieser Basis nicht möglich ist. Bei der Durchsicht der Literatur zu den verschiedenen Therapieformen fällt auf, daß im angelsächsischen Raum der alleinigen Radiotherapie eine größere Bedeutung zukommt als in Mittel- und Westeuropa [4, 5, 25, 28, 49, 76, 84]. In letzter Zeit wird allgemein die kombinierte chirurgisch-radiologische Therapie für alle Tumorstadien zunehmend angewendet, wobei der Trend wieder zur postoperativen Bestrahlung geht [84]. Allerdings sollte betont werden, daß eine praeoperative Bestrahlung mit adaequaten Dosen ebenfalls gute Ergebnisse gebracht hat [86].

Die Anwendung von primärer Chemotherapie wird in der Literatur allgemein als Therapie der letzten Wahl bei primär ausgedehnten Karzinomen und als Rezidivtherapie angegeben. So gibt es zahlenmäßig nur kleine Studien zu dieser Therapieart [13]. Kurzzeitremissionen nach Chemotherapie wurden bei der Mehrzahl der Patienten beobachtet. Nach einer Latenzzeit von 4 bis 6 Monaten traten Rezidive mit in der Folge letalem Ausgang auf [13, 49]. Längere Remissionszeiten nach Chemotherapie geben Günther und Müller [34] an: Den Patienten wurden die Zytostatika intraarteriell appliziert, wodurch eine höhere Gewebskonzentration im Tumor erzielt werden konnte, als bei systemischer Gabe. Allerdings sehen die Autoren die intraarterielle Chemo-

therapie nicht als Standardtherapie der Zukunft an; aufgrund der schwierigen und für den Patienten belastenden Methode soll sie eher eine Ausnahmetherapieform darstellen.

4.3. Immunologisches Monitoring von Karzinompatienten

Ein immunologisches Begleitmonitoring bei TCa-Patienten wird von keinem der in Kap. 4.2 zitierten Autoren beschrieben. Immunologische Studien bei Mammakarzinompatienten geben Hinweise auf eine primäre, tumorbedingte Alteration des Immunsystems, die durch Chemotherapie verstärkt wird [50, 74].

Immunologische Untersuchungen an Tonsillenkarzinomen wurden von der Arbeitsgruppe Hammer [32, 57, 58] durchgeführt. Diesen Untersuchungen lag die Vorstellung zugrunde, das intakte Immunsystem reagiere auf das invasive Karzinom wie auf ein Antigen und bilde Antikörper [61]. Als autologe Antikörper der IgG-Klasse lassen sie sich wie unter 2.4.5 beschrieben nachweisen. Diese gegen Tumorantigen gerichteten Antikörper dienen neben der klinischen Inspektion der postoperativen Verlaufskontrolle. Im Fall von Rezidivierung trat eine positive Immunfluoreszenz auf bevor klinische Anzeichen für eine Wiedererkrankung festgestellt werden konnten [32, 59]. Durch Daten, die im Rahmen dieser Untersuchung gewonnen wurden, lassen sich die Ergebnisse oben zitierter Arbeiten bestätigen (vergl. Kap. 3.1.4).

Alle Patienten, bei denen ein Rezidiv auftrat, zeigten vorab positive Abstrichzytologien; allerdings kann der Vorlauf von 6 Monaten vor Rezidivierung nicht bestätigt werden. Die Latenzzeit zwischen dem Auftreten positiver Abstrichzytologie und dem klinischen Rezidiv betrug zwischen 2 und 24 Monaten.

In weiteren Untersuchungen der Arbeitsgruppe Hammer wurde die Suppressorzellaktivität bei Patienten mit TCa über

einen längeren Zeitraum verfolgt [32, 60]. Dabei wurde ein Zusammenhang zwischen dem klinischen Verlauf der Krankheit und der Suppressorzellaktivität beobachtet [32, 60]. Vor dem Hintergrund von in vitro-Untersuchungen muß die Aussagekraft der oben zitierten Ergebnisse jedoch bezweifelt werden [18]. Auch läßt sich die Forderung nach Aktivierung von zytotoxischen und gleichzeitiger Supprimierung von Suppressorzellen, beides CD 8-positive T-LSP, nicht erfüllen [95]. Eine erhöhte Suppressorzellaktivität bei Tumorpatienten spricht ebenso wie das Auftreten von autologen Tumor-AK für eine generalisierte und uniforme Reaktion des Immunsystems auf die äußere Noxe Karzinom.

Weitergehende Informationen über die zellulären und humoralen Veränderungen des Immunsystems von Karzinompatienten sollten im Rahmen dieser Studie gewonnen werden. Dabei erschien das Tonsillenzarzinom, das oberflächlich auf einem lymphatischen Organ wächst, als Untersuchungsobjekt besonders geeignet.

Über die Verteilungsmuster der T-LSP sowie der B-Zellen in der nicht karzinomatös veränderten Tp liegen verschiedene Untersuchungen vor [26, 44, 72, 89, 92, 102]. Dabei wiesen Jovanovic [44], Si [89] und Yamanaka [102] eine große Anzahl von CD 4-positiven T-LSP in Germinativzentren der Tp nach. Alle angeführten Autoren kamen aufgrund ihrer immunhistochemischen Untersuchungen zu dem Ergebnis, die Tonsille sei ein immunaktives Organ, welches für den gesamten Organismus von Bedeutung ist. Andererseits konnte von Siegel [90] kein direkter immunregulatorischer Effekt der Tp im Organismus nachgewiesen werden. Er beobachtete prae und post Tonsillektomie keinen signifikanten Unterschied bei PHA- und ConA-stimulierten peripheren T-LSP.

Zur Verteilung der peripheren T-LSP bei bioptisch gesicherten TCa berichtet Johnson 1984 [43]. In einer Studie zu den T-LSP

Relationen von CD 4 / CD 8-positiven Zellen bei 23 Patienten, wurden gegenüber gesunden Patienten verschobene Verteilungsmuster beobachtet. Aufgrund der erhobenen Daten ließ sich jedoch keine Aussage über die prognostische Relevanz der Beobachtung einer Relationsverschiebung der T-LSP machen.

Eine ähnliche Fragestellung wurde von Wolf [101] untersucht. Er beobachtete den Effekt von Radiatio auf die T-LSP von 30 Patienten mit TCa. Die T-LSP wurden vor, während und nach Therapie gemessen und mit Werten einer gesunden Kontrollgruppe ($n = 40$) verglichen. Die Ergebnisse ähneln denen dieser Studie: unter Therapie nahmen die CD 4-positiven Zellen ab, während die CD 8-positiven Zellen relativ zunahmen und auch nach Beendigung der Therapie die Relation von CD 4-/ CD 8-positiven Zellen bei annähernd normalen Leucocytenzahlen gleich blieb.

Die von Johnson und Wolf beobachteten Verschiebungen der T-LSP bei Trägern eines TCa entspricht den Ergebnissen *dieser Studie*:

Im Vergleich der peripheren T-LSP gesunder Probanden und TCa-Patienten lag der relative Anteil von CD 8-positiven Zellen bei den Karzinompatienten gegenüber dem Normalkollektiv signifikant höher (vergl. 3.6). Die gleichen Ergebnisse wurden bei therapierten Patienten und solchen mit fortgeschrittenem oder entdifferenziertem Karzinom gesehen (3.3, 3.4). Aufgrund der vorab dargestellten Beobachtungen kann ein gleicher, additiver Effekt von wachsender Tumormasse und aggressiver Therapie auf das Immunsystem angenommen werden. Allerdings muß hier bedacht werden, daß Patienten, die einer aggressiven Therapie unterzogen werden, bereits Träger eines Karzinoms sind. Ein zusätzlicher immunsupprimierender Effekt durch Chemotherapie und Radiatio kann unterstellt werden [78,

97]. Diese These wird von Untersuchungen bei Mammakarzinompatienten bestätigt [30].

Der praetherapeutisch erhobene LSP-Status bei lokal begrenztem Karzinom und bei bestehender metastatischer Absiedlung ergab im ersteren Fall ein im Normalbereich befindliches LSP-Verteilungsmuster, im letzteren Fall erniedrigte Werte für CD 3- und CD 4-positive Zellen, sowie erhöhte Werte für CD 8-positive Zellen, was für einen immunsupprimierten Zustand spricht. Petrini et al. beobachteten bei Patientinnen mit Mammakarzinom, die durch adjuvante Chemotherapie behandelt wurden, einen zusätzlichen signifikanten Abfall der peripheren T-LSP. Langzeitfolgeuntersuchungen, die 2 bis 3 Jahre nach adjuvanter Chemotherapie durchgeführt wurden, ergaben immer noch signifikant verminderte T-LSP-Relationen [78].

Die therapiebedingte Verschiebung der T-LSP scheint unabhängig von der Therapieart aufzutreten. Radiatio und Chemotherapie bewirkten in gleicher Form eine Veränderung der Relation von CD 4- und CD 8-positiven T-LSP, die auch nach Abschluß der Therapie anhielt (3.3, 3.4). Dabei regenerierte sich nach Beendigung der Therapie zwar die absolute T-Zellzahl; das Verhältnis der CD 4- und CD 8-positiven Lymphozyten zu den Gesamtlymphozyten blieb aber konstant. Ähnliche Beobachtungen wurden bei Mammakarzinompatientinnen nach Radiatio [77] und Chemotherapie [78] gemacht, während bei anderen Tumorarten die Ergebnisse unterschiedlich ausfielen: Karavodin et al. fanden keine systematische Veränderung von T-LSP bei Melanompatienten [46]. Weitaus charakteristischere T-LSP-Veränderungen wurden bei nierentransplantierten Patienten beschrieben [16, 99]. Ein Ansteigen der CD 4- und CD 8-positiven T-LSP korrelierte in hohem Maß mit einer Abstoßungsreaktion [99]. Hayashi et al. [35] beobachteten die CD 8-positiven T-LSP bei Patienten mit Oropharynxkarzinomen der verschiedensten Ausdehnung. Ihr prozentualer

Anteil bei Karzinompatienten war gegenüber Kontrollpersonen signifikant höher; zudem war der Anteil CD 8-positiver Lymphozyten bei Patienten mit positiven regionalen Lymphknoten signifikant erhöht gegenüber solchen ohne lokale Metastasierung. Auch bei Nachsorgekontrollen fanden Hayashi et al. bei klinisch geheilten Patienten tendenziell niedrigere Werte für CD 8-positive T-LSP als bei rezidivierenden Karzinomen. Die Autoren leiten aus den obigen Ergebnissen eine immunsupprimierende Funktion der CD 8-positiven T-LSP ab, deren weitere Eigenschaften abgeklärt werden sollten.

Die vorab zitierten divergierenden Ergebnisse des immunologischen Monitorings bei Karzinompatienten, lassen, insbesondere in Bezug auf eine zunächst denkbare, uniforme Reaktion des Immunsystems auf die Noxe Karzinom, viele Fragen unbeantwortet. Insbesondere bleibt unklar, ob die Bestimmung von T-Zellen aus dem Serum der Patienten Aufschluß über Stadien einer Krankheit geben kann [30]. Vor dem Hintergrund großer interindividueller Schwankungen ist es unsicher, aus alleinigem Monitoring peripherer T-LSP Rückschlüsse oder Prognosen auf einen Krankheitsverlauf abzuleiten. Möglicherweise reagiert das immunologische System bei Karzinompatienten komplexer und weist mehr interindividuelle Unterschiede auf, als vorab bei nierentransplantierten Patienten beschrieben [16, 99].

In der Entwicklung monoklonaler Antikörper wird laufend daran gearbeitet, spezifische Tumorantigene zu finden. Es bleibt zu hoffen, daß Zellmarker entwickelt werden, die den immunologischen Status des Patienten eindeutiger charakterisieren und damit zu adäquaten Therapieformen führen können. Schon heute wird der Einsatz von MAK der CD 3-Klasse als Therapeutika bei Abstoßungsreaktionen erprobt [15,42].

4.4 Tumordifferenzierungsgrad und periphere T-Lymphozytensubpopulationen

Die Einteilung von Tumoren erfolgt in der Regel nach dem TNM-System der UICC (vergl. 2.1.5) [37, 38]. Eine solche Klassifizierung erlaubt eine lückenlose und systematische Erfassung aller Tumoren und ihrer Ausdehnung bzw. Absiedlung im jeweiligen Organismus. Eine histologische Gewichtung des Tumors nach Gesichtspunkten wie Invasivität, Mitoserate und Kernplasmarelation wird durch die TNM-Klassifikation nicht berücksichtigt.

Beim Erstellen einer Tumorphistologie wird üblicherweise der Tumordifferenzierungsgrad angegeben. Dieses Kriterium, das erstmals von Broders [10] beschrieben wurde, liefert Hinweise für die zu erwartende Metastasierungs- und Rezidivierungstendenz. Mang et al. [62] beschrieben 1982 in einer retrospektiven Untersuchung von Patienten mit TCa einen Zusammenhang von histologischem Differenzierungsgrad und den gemessenen immunologischen Parametern. Ein Zusammenhang von TDG und Rezidivierungstendenz, die durch Abstrichzytologie verfolgt wurde, konnte beobachtet werden. 50% der Patienten mit TDG III verstarben frühzeitig. Zusätzlich wurde bei Trägern entdifferenzierter Karzinome eine Verschiebung der Relation von T- und B-Zellen nachgewiesen. Die Ergebnisse von Mang ließen sich im Wesentlichen durch die vorliegende Studie bestätigen, wurden aber wegen der geringen Zahl untersuchter Patienten nicht gesondert beschrieben und getestet. In Kapitel 3.1.4, Tab 3.3 sind die 26 Patienten aufgelistet, von denen über 14 Monate eine Abstrichzytologie angefertigt wurde. Bei 6 dieser 26 Patienten entsprach die Histologie des Primärtumors dem TDG III. Sie alle zeichneten sich durch eine frühe Rezidivierungstendenz und Frühmortalität aus (cf. Abb. 3.2).

Ein weiteres und vorrangiges Untersuchungsziel dieser Studie war die Überprüfung eines Zusammenhangs von TDG und T-LSP. Hayashi [35] untersuchte bei 37 Patienten, die nach TDG I-III der WHO-Klassifizierung eingeteilt waren, die CD 8-positiven Zellen der jeweiligen Gruppe. Die CD 8-positiven Zellen für TDG III Patienten lagen signifikant über den Werten der Gruppe mit TDG I. Ein signifikanter Unterschied der getesteten LSP zwischen Grad I und II bzw. Grad II und III bestand nicht; hier ließ sich lediglich eine steigende Tendenz der CD 8 LSP-Werte von Grad I nach III aufzeigen [35].

Die Untersuchungsergebnisse dieser Arbeit über einen möglichen Zusammenhang von TDG und peripheren T-LSP sind mit denen von Hayashi vergleichbar. Neben der von Hayashi dargestellten Abhängigkeit von TDG und CD 8-positiven T-LSP wurden die gleichen Fragestellungen für CD 3- und CD 4-positive T-LSP und TDG untersucht. Es bestand für alle T-LSP bezogen auf den jeweiligen TDG ein signifikanter Unterschied der Gruppenmittelwerte voneinander.

Wenn man von einer prognostischen Relevanz des TDG für den Patienten ausgehen kann, so müßte sich ein Zusammenhang von TDG und Rezidivrate sowie der Mortalität aufzeigen lassen. In Kapitel 3.1.2 wird für die TDG I-III eine signifikant steigende Mortalität für das Patientengut dieser Studie dargestellt. Dabei korrelieren die Überlebensmonate der Patienten nach Diagnosestellung mit sinkendem TDG; ein Zusammenhang von Tumorgroße und Überlebenszeit konnte nicht festgestellt werden. Allerdings wurde hier nur die Abhängigkeit von ÜZ und Größe des Primärtumors getestet; die lokale Metastasierung blieb unberücksichtigt, um eine ausreichende Gruppengröße zu erzielen.

Es wurde immer wieder versucht, den TDG oder vergleichbare Kriterien für die Beurteilung einer notwendigen Therapie oder für eine Prognose anzuwenden [29, 69]. Die Ergebnisse von Moore [69] bei in vitro-Bestrahlung dreier Plattenepithelkarzinome unterschiedlicher Differenzierung deckten sich nicht mit der erwarteten Reaktion auf die Therapie. So konnte keine Korrelation zwischen TDG und Radiosensitivität der Tumoren festgestellt werden. Derartige kinetische Verhaltensweisen der Tumoren erscheinen vor dem Hintergrund der derzeit angewendeten Therapiemöglichkeiten (chirurgische Sanierung, Radiatio, Chemotherapie) nicht von größter Wichtigkeit. Die heute durchgeführten Therapieformen beim Tonsillenkarzinom, wie auch bei vielen anderen Karzinomen basieren übereinstimmend auf der Vorrangigkeit der chirurgischen Sanierung [84] und anschließender lokaler Bestrahlung oder systemischer Therapie [5, 49, 84, 98]. Die oben zitierten Untersuchungen bezogen sich auf eine in vitro-Situation, wo der Tumor ohne seine physiologische Umgebung beobachtet wurde. Daher stehen die Ergebnisse von Moore [69] nicht notwendigerweise im Widerspruch zu den Beobachtungen von Glanz [29], Hayashi [35], Mang [62] und dieser Studie. Man kann vielmehr annehmen, daß die Berücksichtigung des TDG neben Tumorgröße und lokaler Metastasierungstendenz in der Gesamtschau für den Patienten zu einer optimalen Therapie und Nachsorge führt.

5. Zusammenfassung

Die vorliegenden Untersuchungen wurden bei 53 Patienten mit TCa durchgeführt. Es wurden die T-LSP von 450 mononukleären Konzentraten des peripheren Bluts bestimmt. Bei 26 Patienten aus obigem Patientengut wurden zusätzlich 115 Abstrichtests vorgenommen. Die mononukleären Zellen wurden mit CD 3-, CD 4-, CD 8- und Clone 5201-Antikörpern markiert, welche die T-Lymphozyten, die T-Helfer/-Inducer Subpopulationen, die T-Suppressor-/zytotoxischen Subpopulationen sowie die B-Zellen kennzeichnen.

Die Auswertung der Überlebensdaten erbrachte ein Morbiditätsmaximum für das 5. bis 7. Dezenium. Bei den männlichen Patienten lag das Erkrankungsmaximum im 5. und 6., bei den weiblichen Patienten im 7. Dezenium. Die ÜZ des Patientenguts wurde mit durchschnittlich 2,2 Jahren ermittelt. Eine signifikant niedrigere ÜZ lag bei Patienten mit geringer differenzierten Karzinomen vor. Die Größe des Primärtumors zeigte keinen signifikanten Einfluß auf die ÜZ. Ebenso konnte keine sichere Beziehung zwischen den T-LSP-Werten mit großen interindividuellen Schwankungen und der ÜZ der Patienten beobachtet werden. Eine deutliche Übereinstimmung bestand zwischen positiver Abstrichzytologie und nachfolgendem Tod der jeweiligen Patienten.

Die Werte der T-LSP im peripheren Blut von Normalpersonen stimmten mit den Angaben der entsprechenden Literatur überein.

Für die untersuchten Patienten bestand bereits vor Therapie eine Veränderung der T-LSP in Abhängigkeit von Differenzierungsgrad und Tumorgroße: mit zunehmender Entdifferenzierung wurden fallende Werte für CD 3- und CD 4-

positive T-LSP ermittelt, sowie steigende Werte für CD 8-positive T-LSP.

Nach Therapie wurden signifikant niedrigere Werte für alle T-LSP gemessen. Unter Chemotherapie trat pro Zyklus eine Reduzierung aller T-LSP auf, die sich im therapiefreien Intervall wieder ausglich. CD 4-positive Zellen nahmen bei zytostatischer Therapie niedrigere Werte an, als CD 8-positive Zellen. Eine spezifische Veränderung der B-Zellen durch TDG oder Tumorgroße war nicht zu erkennen. Allerdings korrelierten CD 3-positive und B-Zellen bei allen Patienten. Die Quotienten von CD 4/CD 3 und CD 8/CD 3-positiven Zellen bei Karzinompatienten und Normalpersonen unterschieden sich signifikant. Bei Patienten mit positiver Abstrichzytologie wurden gleichzeitig hohe CD 8-Werte beobachtet.

Das immunologische Monitoring von Karzinompatienten erscheint vor dem Hintergrund der neuen Möglichkeiten der Diagnostik mit Hilfe von MAK vielversprechend. Die großen interindividuellen Unterschiede der T-LSP der Patienten können nicht immer ursächlich zugeordnet werden. TDG und TNM-Klassifikation liefern gemeinsam mit immunologischen Parametern Hilfen für eine Prognose der Krankheit.

Literaturverzeichnis

1. **Akiyoshi K. Jr., Y. Aoyama:**
Immunfluorescence in medical science.
Springer, New York (1983)
2. **Altmann et al.:**
Handbuch der allgemeinen Pathologie.
Bd. 6, Teil 5, Springer Verlag : 85 (1974)
3. **Axtell M., S. J. Cutler, M. H. Myers:**
End results in cancer
Report No 4 U.S.Department of Health, Education and
Welfare, Public Health Service, National Institute of Health,
National Cancer Institute, Bethesda/Maryland (1972)
4. **Barrs D. M., L. W. DeSanto, W. M. O'Fallon:**
Squamous carcinoma of the tonsil and tongue base region
Arch. Otolaryng. 105: 479-485 (1979)
5. **Batsakis, J. :**
Tumors of the head and neck, 2nd Edition
Williams and Wilkins, Baltimore (1979)
6. **Benacerraf B., Unanue E. R.:**
Immunologie
De Gruyter, Berlin (1982)
7. **Bhan A.I., E. L. Reinherz, S. Poppema, R. T. Mc Cluskey,
S. F. Schlossmann:**
Location of T-cell and major histocompatibility complex
antigens in the human thymus.
J. Exp. Med. 152 : 771-782 (1980)
8. **Bockmühl F., H. J. Herold:**
Über die prozentuale Verteilung der Tumorlokalisationen im
Bereich der Hals-Nasen-Ohrenheilkunde
HNO (Berlin) 14 : 243 (1966)
9. **Boenninghaus H. G.:**
Hals-Nasen-Ohrenheilkunde
Springer, Berlin (1976)

10. **Broders A. C.:**
Carcinoma in situ contrasted with benign penetrating epithelium.
J. Amer. Med. Ass. 99 : 1670-1674 (1932)
11. **Cachin Y.:**
Tumeurs malignes de la glande palatine, in:
Encyclopaedie medico-chirurgicale (Paris)
J. T. Q. A. , Les Matres, de Veyre (1973)
12. **Cantor H., E. A. Boyse:**
Functional subclasses of T-lymphocytes bearing different Ly antigens. The generation of functionally distinct T-cell subclasses is a different process independant of antigens.
J. Exp. Med. 141 : 1376-1389 (1975)
13. **Caradonna R., W. Paladine, J. C. Ruckdeschel, J. C. Goldstein, J. E. Olson, J. W. Jaski, S. A. Silvers, S. Hillinger, J. Horton:**
Methotrexate, Bleomycin, and High-Dose Cis-Dichloro-diamineplatinum (II) in the treatment of advanced epidermoid carcinoma of the head and neck.
Cancer Treatment Reports 63, No. 3 : 489-491 (1979)
14. **Castigliano S. G.:**
Influence of continued smoking on the incidence of second primary cancers involving mouth, pharynx and larynx.
J. Amer. Dent. Ass. 77 : 580-584 (1968)
15. **Chang T. W., P. C. Kung, S. P. Gingras, G. Goldstein:**
OKT 3 monoclonal antibody react with an antigen recognition structure of human T-cells.
Proc. Nat. Acad. Sci. USA 78 : 1805-1808 (1981)
16. **Cosimi A. B., R. B. Colvin, R. C. Burton et al.:**
Use of monoclonal antibodies to T-cell subsets for immunologic monitoring and treatment in recipients of renal allografts.
N. Engl. J. Med. 305 : 308 - 314 (1981)
17. **Cutler S. J., J. L. Young:**
Third national cancer survey: Incidence data
DHE W Publ. No. 75 - 787.
NCI Monograph No. 41 (1975)

18. **Damble N. K., S. Gupta:**
Heterogeneity of Concanavalin A-induced suppressor T-cells in man defined with monoclonal antibodies.
Clin. Exp. Immunol. 48 : 581-588 (1982)
19. **Diamantstein T., J. Hofferberth:**
Nachweis spezifischer 19S antikörperbildender Zellen in der Tonsille.
Arch.klin. exp. Ohr-,Nas.-u.Kehlk.-Heilkunde 194 : 432 (1969)
20. **De Wale M., C. Thielmanns, B. K. G. Vankamp:**
Immunoregulatory T-cells in mononucleosis and toxoplasmosis.
N. Engl. J. Med. 304 : 460-462 (1981)
21. **Edström S., P.-H. Jeppsson, J. Lindström:**
Carcinoma of the tonsillar region. Aspects on treatment modalities with reference to a study on patients treated by irradiation
Laryngoscope 87 : 1019-1023 (1978)
22. **Elwood J. M., J. C. G. Pearson, D. H. Skippen, S. M. Jackson:**
Alcohol, smoking, social and occupational functions in the aetiology of cancer of the oral cavity, pharynx and larynx.
Int. J. Cancer 34 : 603-612 (1984)
23. **Ensley J. F., J. R. Jacobs, A. Weaver, J. Kinzil, J. Crissmann, J. A. Kish, G. Cummings, M. Al-Sarraf:**
Correlation between response to Cisplatin-Combination Chemotherapie and subsequent radiotherapy in previously untreated patients with advanced squamous cell cancers of the head and neck.
Cancer 54 : 811-814 (1984)
24. **Falk P. V., W. Mootz:**
Morphologische Untersuchungen zur Retikulierung des Tonsillenepithels.
Acta oto-laryng. (Stockh.) 75 : 85-103 (1973)
25. **Fayos J.V. , P. Morales:**
Radiation therapy of carcinoma of the tonsillar region.
Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys., Vol. 9 : 139 - 144 (1983)

26. **Feller A. C., M. R. Parwaresch, H. H. Wacker et al.:**
Combined immunohistochemical staining for surface IgD and T-Lymphocyte subsets with monoclonal antibodies in human tonsils.
Histochem. J. 15/6 : 557 - 562 (1983)
27. **Frick H., H. Leonhardt, D. Stark:**
Spezielle Anatomie II
Kopf, Hals, Eingeweide, Nervensystem
Thieme, Stuttgart : 172 (1978)
28. **Givens C. D., M. E. Johns, R. W. Cantrell:**
Carcinoma of the tonsil - Analysis of 162 cases.
Arch. Otolaryng. Vol 107 : 730-734 (1981)
29. **Glanz H., Th. Eichhorn:**
Die prognostische Bedeutung des histologischen Gratings von Stimmlippenkarzinomen.
HNO 33/3 : 103 - 111 (1985)
30. **Goldstein G., J. Lifter, R. Mittler:**
Immunregulatory changes in human disease detected by monoclonal antibodies to T-lymphocytes.
McMichael (ed): Monoclonal antibodies in clinical medicine
Academic Press, London 40 - 70 (1982)
31. **Greaves M. F., D. Delia, R. Sutherland, J. Rao, W. Verbi, J. Kemshead, G. Hariri, G. Goldstein, P. Kung:**
Expression of the OKT monoclonal antibody defined antigenic determinants in malignancy.
Int. J. Immunopharmacol. 3 : 283-299 (1981)
32. **Greipel J.:**
Immunologische Untersuchungen an Patienten mit Tonsillenkarzinom
Dissertation an der Ludwig-Maximilians-Universität München (1982)
33. **Gruber F. X.:**
Immunologische Untersuchungen an Patienten mit Tonsillenkarzinom.
Dissertation an der Ludwig-Maximilians-Universität München (1984)

34. **Günther R., W. Müller :**
Technik und Erfolgsbewertung der intraarteriellen
Chemotherapie von Plattenepithelkarzinomen
Arch. Geschwulstforsch. 52: 113-116 (1982)
35. **Hayashi Y., T. Nishida, H. Yashida et al.:**
Peripheral T-lymphocyte population in head and neck cancer.
Cancer Immunol. Immunother. 17 : 160 - 164 (1984)
36. **Hellström I., K. E. Hellström, G. E. Pierce, J. P. S. Young:**
Cellular and humoral immunity to different types of human
neoplasms.
Nature 220 : 1352-1354 (1968)
37. **Hermanek P. (Hrsg.):**
Bedeutung des TNM-Systems für die klinische Onkologie.
Zuckschwerdt-Verlag, München-Bern-Wien (1986)
38. **Hermanek P., L. H. Sobin (eds.):**
TNM-Classification of malignant tumors.
Intern. Union against Cancer (UICC), Geneva, 4th Ed. (1987)
39. **Hirayama T.:**
An epidemiological study of oral and pharyngeal cancer in
Central and Southeast Asia
Bull. WHO 34 : 41 (1966)
40. **Janossy G. et al:**
The human thymic environment: An immohistologic study.
J. Immunol. 125 : 202-210 (1980)
41. **Janossy G., N. Tidmann, W. S. Selby, J. A. Thomas, S. Granger,
P. C. Kung, G. Goldstein:**
Human T-lymphocytes of inducer and suppressor type occupy
different microenvironments.
Nature 288 : 81-84 (1980)
42. **Janossy G., G. Goldstein, B. Cosimi:**
Monoclonal anti human lymphocyte antibodies:
There potential value in immunosuppression and bone
marrow transplantation. in
McMichael (ed):
Monoclonal antibodies in clinical medicine.
Ac. Press London : 81-102 (1982)

43. **Johnson J. T., B. S. Rabin, B. Hirsch, P.B. Thearle:**
T-cell subpopulations in head and neck carcinoma.
Otolaryngol. Head Neck Surg. 92 : 381 - 385 (1984)
44. **Jovanovic R., J. Markovic-Lipkovski:**
Identification of subpopulations of mononuclear cells in
human tonsils with monoclonal antibodies of avidin-biotin
and avidin-biotin-peroxidase complex methods
Yug-Srp. Arh. Celok. Lek. 113 : 9-16 (1985)
45. **Jung H.:**
Intravitale Lymphabflußuntersuchungen vom Nasenrachen-
dach beim Menschen.
Z. Laryngol. Rhinol. 53 : 769-773 (1974)
46. **Karavodin L. M., A. E. Guiliano, S. H. Golub:**
T-lymphocyte subsets in patients with malignant melanoma.
Cancer Immunol. Immunother. 11 : 251 - 254 (1981)
47. **Koburg E.:**
Die Tonsille im immunologischen Geschehen
Arch. Ohr.-, Nas.- u. Kehlkopfheilkunde 196 : 65-75 (1970)
48. **Köhler G., C. Milstein:**
Continuous cultures of fused cells secreting antibody of
predefined specificity.
Nature 256 : 495-497 (1975)
49. **Kristen K., H. Oswald, R. Singer, H. Weidauer:**
Behandlung fortgeschrittener Plattenepithelkarzinome im
Hals-Kopf-Bereich
Deutsches Ärzteblatt 18: 873-878 (1981)
50. **Kunert E., U. Rodeck et al.:**
Unveröffentlichte Ergebnisse einer immundiagnostischen
Studie bei Brustkrebs
Gyne-forum : 334 (1985)
51. **Kung P. C., G. Goldstein, E. L. Reinherz, S. F. Schlossmann:**
Monoklonal antibodies defining distinctive human T-cell
antigens.
Science, 206 : 347-349 (1979)

52. **Kuravilla, A.:**
Cancer of the tonsil - A review
J. Laryngol Otol. , 97 : 735-744 (1983)
53. **Lennox E. S.;**
Monoclonal antibodies and tumor antigens -a perspective. in:
Mitchell S., H. F. Oettgen (ed):
Hybridomas in cancer diagnosis and treatment.
Raven Press, New York : 5-13 (1982)
54. **Leung D. Y. M., A. R. Rodes, R. S. Ghea:**
Enumeration of T-cell subsets in atopic dermatitis using
monoclonal antibodies.
J. Allergy Clin. Immunol. 67 : 450-455 (1981)
55. **Lewis M. G., T. M. Philipps, G. Rowden, L. M. Jerry:**
Humoral immune reactions in cancer patients.
Handbook of cancer immunology, vol 3 , H. Waters ed.,
Garland STPM Press, New York and London
56. **Makino S.:**
Studies on the culture in vitro of tonsillar tissue.
Pract. Otolaryng. 34 : 1129-1135 (1959)
57. **Mang W. L., C. Hammer, F. Gruber:**
Immunologische Untersuchungen an Patienten mit
Karzinomen des Mundbodens und der Tonsillen
Laryngol. Rhinol. Otol. 59 : 227-231 (1980)
58. **Mang W. L., C. Hammer, F. Gruber, F. Weinfurter,**
A. Allmeling, W. Brendel:
Nachweis von Antitumor-Antikörpern bei Patienten mit
Tonsillenkarcinom
Laryngol. Rhinol. Otol. 60 : 11-15 (1981)
59. **Mang W. L., C. Hammer:**
The prognostic value of immunfluorescence from oral swabs
in patients with tonsillar carcinoma
J. Med. 12 : 447-453 (1981)
60. **Mang W. L., C. Hammer, F. Gruber:**
Suppressor cell activity in patients with tonsillar carcinoma
Arch. Otolaryng. (N.Y.) 230 : 21-26 (1981)

61. **Mang W. L.:**
Das Plattenepithelkarzinom der Tonsilla Palatina und dessen
Einfluß auf das immunologische System beim Menschen.
Habilitationsschrift Techn. Universität München (1982)
62. **Mang W. L., A. Lersch, W. Permanetter, C. Hammer:**
Histologischer Differenzierungsgrad und Prognose von
Oropharynx-Tumoren gemessen an immunologischen
Parametern.
Arch. Oto-Rhino-Laryng. 235 : 673 - 676 (1982)
63. **Marshall V. F.:**
Currant clinical problems regarding bladder tumors.
Cancer (Phil.) 9 : 543-550 (1956)
64. **Mc Kenzie J. F. C., T. Potter :**
Murine lymphocyte surface antigens.
Adv. Immunol. 27 : 179-338 (1979)
65. **Meyer zum Gottesberge A., E. Koburg:**
Zellproliferation und Zellwanderung in den Tonsillen.
Acta otolaryngol. (Stockh.) 57 : 383 (1964)
66. **Meyer zum Gottesberge A., E. Koburg:**
Die Tonsille als lymphozytäres Organ.
Acta otolaryngol. (Stockh.) 63 : 229 (1967)
67. **Milstein C., E. S. Lennox in : Friedlander (ed):**
Current topics in developmental biology.
Academic Press, New York : 1-32 (1980)
68. **Minear W. L., L. B. Arey, J. T. Milten:**
Prenatal and postnatal development and form of crypts of
human palatine tonsil.
Arch. Otolaryng. 25 : 487-493 (1937)
69. **Moore J. V., R. Moses, V. J. Cowie:**
Lack of correlation between differentiation status and
response to radiation of three murine squamous cell
carcinomas.
Radiat. Environ. Biophys. 24 : 211 - 218 (1985)
70. **Mootz W., P. Falk:**
Die Ultrastruktur des Tonsillenepithels.
Arch. Ohr-, Nas.- und Kehlk.-Heilkunde 205 : 224-227 (1973)

71. **Moretta L., M. Ferranini, A. Mingari, A. Moretta, S. R. Webb:**
Subpopulations of human T-cells identified by receptors for immunoglobulins and mitogen responsiveness.
J. Immunol. 117 : 2171-2174 (1976)
72. **Mudde G. C., C. J. M. Verberne, G. C. DeGast:**
Human tonsil B-lymphocyte function II. Pokeweed mitogen-induced plasma cell differentiation of B cell subpopulations expressing multiple heavy chain isotopes on their surface
J. Immunol. 133 : 1896-1901 (1984)
73. **Naumann H. H.:**
Die operative Behandlung des Tonsillenkarzinoms, in Schuchardt (Ed.), Fortschritte d. Kiefer- und Gesichts-Chir. Bd. XIII : 71 (1982)
74. **Nissen-Meyer R.:**
Comparison of effects obtained with various types of adjuvant treatments - a commentary.
Cancer Treat. Rev. 6, Suppl. : 101-104 (1979)
75. **Ogra P. L.:**
Effect of tonsillectomy and adenoidectomy on nasopharyngeal antibody response to poliovirus.
New England J. Med. 284 : 59-64 (1971)
76. **Perez C. A., J. A. Purdy, S. R. Breaux, J. H. Ogura, S. v. Essen:**
Carcinoma of the tonsillar fossa - A nonrandomized comparison of preoperative radiation and surgery or irradiation alone - long-term results
Cancer 50: 2314-2322 (1982)
77. **Petrini B., J. Wassermann, H. Blomgren:**
Radiotherapy and persistent reduction of T-cells.
J. Clin. Lab. Immunol. 11 : 159 - 160 (1983)
78. **Petrini B., J. Wassermann, H. Blomgren, S. Rotstein:**
Changes of blood T-cell subsets in patients receiving postoperative adjuvant chemotherapy for breast cancer.
Eur. J. Cancer Clin. Oncol. 20 : 1485 - 1487 (1984)

79. **Reagon J. W. N. G., AB. P.:**
The cells of uterine adenocarcinoma.
William and Wilkins, Baltimore (1965)
80. **Reinherz E. L., P. C. Kung , G. Goldstein, S. F. Schlossmann:**
Seperation of functional subsets of human T-cells by a
monoclonal antibody.
Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 76 : 4061-4065 (1979)
81. **Reinherz E. L., P. C. Kung, J. M. Pesando, J. Ritz, G. Goldstein,
S. F. Schlossmann:**
Ia determinants on human T-cell subsets defined by mono-
clonal antibody.
J. Exp. Med. 150 : 1472-1482 (1979)
- 82 **Reinherz E. L., C. Morimoto, A. C. Penta, S. F. Schlossmann:**
Regulation of B-cell immunoglobulin secretion by functional
subsets of T-lymphocytes in man.
Eur. J. Immunol. 10 : 570-572 (1980)
83. **Reinherz E. L., R. Geha, M. E. Wohl, C. Morimoto, F. S. Rosen,
S. F. Schlossmann:**
Immunodeficiency associated with loss of T4 + inducer T-cell
function
N. Engl. J. Med. 304 : 811-816 (1981)
84. **Rudert H.:**
Tumoren des Oropharynx, in:
Berendes J. , R. Link, F. Zöllner:
HNO Heilkunde in Praxis und Klinik, Bd. 4 Teil 2: 10
Thieme, Stuttgart, New York, (1983)
85. **Sachs L.:**
Angewandte Statistik.
Springer, Berlin (1984)
86. **Sack H.:**
Zur Strahlentherapie der Oropharynxkarzinome.
HNO (Berlin) 30 : 393-396 (1982)
87. **Saito H., Y. Ikeda, M. Shonago, T. Ishikawa:**
Intratonsillar pressure and cell migration into the tonsillar
crypts.
Jap. J. Ton. 13 : 33-38 (1973)

88. **Scheuerlein P. G.**, G. Schwarze in
Siegenthaler W. et al ed:
Innere Medizin in Praxis und Klinik
Defekte des Immunsystems, Bd. III : 127-129 , 3. Aufl.
Thieme, Stuttgart (1985)
89. **Si L.**, G. Rascoe, T. L. Whiteside:
Selective distribution and quantitation of T-lymphocyte
subsets in germinal centers of human tonsils.
Definition by use of monoclonal antibodies
Arch. Pathol. Lab. Med. 107 : 228-231 (1983)
90. **Siegel G.**:
The influence of tonsillectomy in cell mediated immune
response.
Arch. Oto-Rhino-Laryng. 239 : 205 - 209 (1984)
91. **Suciu-Foca N.**, R. Khan, M. Hardy, M. Godfrey, E. Susinno,
E. Reed, K. Woodward, K. Reemtsma:
Expression of HLA-D and DR gene products on in vitro and in
vivo primed human T-cells.
Transplant. Proc. 13 : 1020-1025 (1981)
92. **Sugiyama M.**, K. Ohashi, T. Sasaki et al.:
T-cell subsets in the tonsil in relation to age analysed with
monoclonal antibodies (anti-leu antibodies) and fluorescence
activated cell sorter (FACS).
Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol. 6 : 195 - 204 (1983)
93. **Surjan L. jun.**, M. Surjan:
The antibody production of tonsils.
Arch. Ohr-, Nas.- und Kehlk.-Heilkunde 195 : 331-333 (1970)
94. **Surjan L. sen.**, M. Surjan:
Immunological role of human tonsils.
Acta oto-laryng. 71 : 190-193 (1971)
95. **Thomas Y.**, L. Rogozinski, L. Chess:
Relationship between human T-cell functional heterogeneity
and human T-cell surface molecules.
Immunological Reviews 74 : 113-128 (1983)

96. **Thomasi Th. B.**, J. Bienenstock:
Secretory immunoglobulins in:
Advances in Immunology 9 : 2-87 Academic Press, New York
(1968)
97. **Toivanen A.**, J. Granberg, E. Nordman:
Lymphocyte subpopulations in patients with breast cancer
after postoperative radiotherapy.
Cancer 54 : 2919 - 2923 (1984)
98. **Tumorzentrum München:**
Empfehlungen zur Diagnostik, Therapie und Nachsorge;
Mammakarzinome, Auflage 3 : 7 - 12 (1987)
99. **Van Es A.**, P. J. Oljans, G. F. J. Hendrik :
Lymphocyte subpopulations and prognosis after renal
transplantation.
Dial. Transplant., 12: 113 - 118 (1983)
100. **Warnatz H.:**
Tumorimmunologie
Thieme, Stuttgart (1975)
101. **Wolf G.T.**, B.E. Amendola , R. Diaz , E.J. Lovett III,
R.M. Hammerschmidt , K.A. Peterson:
Defenite vs adjuvant radiotherapy.Comparative effects on
lymphocyte subpopulations with head and neck squamous
carcinoma.
Arch. Otolaryng. 111 : 716 - 726 (1985)
102. **Yamanaka N.**, S. Sambe, Y. Harabuchi, A. Kataura:
Immunohistological study of tonsils. Distribution of T-cell
subsets.
Acta Oto-Laryng. 96 : 509 - 516 (1983)
103. **Yeys E. M.**, P. Hermanns, G. Goldstein, P. Kung, J. Schindler,
J. Van Vauve:
Determination of T-lymphocyte subpopulations by monoclo-
nal antibodies in rheumatoid arthritis.
Influence of immunomodulating agents.
Int. J. Immunopharmacol. 3 : 313-319 (1981)

Worte des Dankes

Herrn Prof. Dr. med. Dr. h.c. W. Brendel danke ich für die freundliche Aufnahme am Institut sowie für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes.

Besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. Dr. med. vet. C. Hammer für die Betreuung meiner Arbeit, für seine Geduld, die fruchtbare Diskussion der Untersuchungsergebnisse und seine zahlreichen Anregungen bei der Ausarbeitung der Thematik.

Herrn Prof. Dr. med. H. H. Naumann und seinen Mitarbeitern danke ich für die freundliche Unterstützung und Hilfe bei der Durchführung der Abstrichzytologien und der Blutabnahmen im Rahmen der Tumorsprechstunde der Hals-Nasen- und Ohrenklinik.

Den Mitarbeitern und Doktoranden der Labors des Instituts für Chirurgische Forschung danke ich herzlich für die täglichen Hilfeleistungen und die kollegiale Unterstützung.

Curriculum Vitae

Geboren am 5.4.1955 in Bad Kreuznach als drittes Kind des Jacob Phillip Forell (Vors. Richter am Landgericht Mainz) und dessen Frau Elfriede, geb. Meier.

Verheiratet seit Mai 1979 mit Hans-Georg Engelken (Dipl. Volkswirt), ein Sohn.

1961 - 1973 Grundschule und Gymnasium in Bad Kreuznach und Wiesbaden.

Juni 1973 Abitur am Humboldt Gymnasium Wiesbaden

1973 - 1975 Studium der Anglistik, Amerikanistik und Geschichte an der Johannes Gutenberg Universität Mainz

1975 /1976 Stipendiatin der Federation of German-American Clubs am Florida Southern College, Lakeland, FL, U.S.A.

1976 - 1979 Fortsetzung des Studiums an der Ludwig-Maximilians-Universität München (LMU)

Juni 1979 Magister Artium in Amerikanistik, amerikanischer Kulturgeschichte und Sprachwissenschaft

1979 - 1984 Studium der Medizin an der LMU München

Okt. 1984 3.Staatsexamen und Approbation als Ärztin
seit

Dez 1984 wissenschaftliche Assistentin an der Frauenklinik Großhadern der Universität München

Gabriele Forell-Engelken

